

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

ÚJ L-NUKLEOZIDOK MINT POTENCIÁLIS ANTIVIRÁLIS ÉS TUMORGÁTLÓ SZEREK SZINTÉZISE

Sendula Róbert



KÉMIA DOKTORI ISKOLA

Vezető: Dr. Inzelt György DSc.

SZINTETIKUS KÉMIA, ANYAGTUDOMÁNY,
BIOMOLEKULÁRIS KÉMIA PROGRAM

Vezető: Dr. Perczel András DSc.

Témavezetők: Dr. Sági Gyula és Dr. Jablonkai István

A dolgozat a Magyar Tudományos Akadémia
Természettudományi Kutatóközpontjában készült.

2013

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Dr. Hajós Györgynek az egykori Biomolekuláris Kémiai Intézet Igazgatójának, hogy a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Kutatóközpontjában készíthettem el a doktori munkámat.

Köszönöm az alábbi szervezeteknek, hogy anyagi támogatásukkal lehetővé tették a munkámat és az eredményeim bemutatását nemzetközi konferenciákon:

Magyar Tudományos Akadémia - Fiatal Kutatói Ösztöndíj

Richter Gedeon Centenáriumi Alapítvány

European Science Foundation - Student Grant

Köszönettel tartozom dr. Sági Gyulának, a doktori munkám befejezése előtt tragikus hirtelenséggel elhunyt témavezetőmnek, hogy munkámat kitartóan irányította, számos hasznos gyakorlati és elméleti tanáccsal segítette. Külön szeretném megköszönni neki, hogy segítségemre volt a publikációs és pályázati anyagok elkészítésében. Köszönet illeti a társtémavezetőt dr. Jablonkai Istvánt is a munkám befejezésében nyújtott segítségével.

Köszönettel tartozom a egykori Nukleotidkémiai Laboratóriumában dolgozó volt munkatársaimnak, dr. Sipos Ferencnek, Braun Andrásnének és Baraczka Baláznénak a laboratóriumi munkában nyújtott segítségükért és a kiváló munkahelyi légkör megteremtéséért.

Köszönet illeti dr. Szabó Pált, dr. Imre Tímeát és dr. Ozohanics Olivért a tömegspektrometriás mérések felvételében és kiértékelésében nyújtott segítségükért, dr. Sipos Szabolcsot valamint Lak Dorottyt a 300 MHz készüléken az NMR-spektrumok felvételéért, Köszönettel tartozom továbbá dr. Orbán Erikának az in vitro citotoxicitás vizsgálatok, valamint dr. Lieve Naesensnek a Leuveni Katolikus Egyetem professzorának és munkatársainak az antivirális vizsgálatok elvégzéséért.

Köszönet a szüleimnek és barátaimnak a türelmes és szerető támogatásukért.

Végezetül hálával tartozom Lapis Katalin gimnáziumi tanárnőnek, aki megszerettette velem a kémia csodálatos világát és kiváló alaptudást adott a további tanulmányaimhoz.

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	2
1. Bevezetés.....	4
2. Irodalmi áttekintés.....	6
2.2 Módosított nukleozidok antivirális és tumorgátló hatása.....	8
2.2.1 A vírusok és a vírusok életciklusa	8
2.2.3 A tumorok és kiváltó okaik.....	11
2.2.4 A tumorgátló szerek és hatásmechanizmusuk	12
2.2.5 Antivirális és tumorgátló L-nukleozidok.....	13
2.3 Módosított nukleozidok előállítása	16
2.3.1 A nukleozidok szintézise	16
2.3.2 A pirimidin nukleozidok bázis-részének módosítása 5-halogén szubsztitúcióval.	18
2.3.3 A nukleobázisok tienil csoporttal történő alkilezése Stille és Suzuki reakciókkal	21
2.3.4 A <i>ribo</i> -konfigurációjú cukor-részen módosított uridin származékok előállítása... ..	23
2.4 Nukleozid 5'-difoszfátok szintézise	25
3. Célkitűzések	27
4. Kísérleti eredmények és értékelésük	30
4.1 Bázis módosított <i>ara</i> -L-nukleozidok előállítása	30
4.1.1 5-Halogén- <i>ara</i> -L-uridinek előállítása	30
4.1.2 Az 5-tienil- és 5-(5-halotien-2-il)- <i>ara</i> -L-uridinek előállítása	32
4.1.3 Az <i>ara</i> -L-citidin származékok előállítása <i>ara</i> -L-uridin származékokból.....	34
4.1.4 Az 5-halogén- <i>ara</i> -L-ctidinek előállítása.....	34
4.1.5 Az 5-tienil- és az 5-(5-halotien-2-il)- <i>ara</i> -L-citidinek előállítása.....	36
4.2 Cukor- és bázismódosított L-uridinek előállítása.....	37
4.2.1 Bázismódosított 2,2'-anhidro-L-uridinek előállítása	37
4.2.2 Bázismódosított L-uridinek előállítása	38
4.2.3 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridinek előállítása.....	38
4.2.4 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridinek előállítása.....	39
4.2.5 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridinek előállítása	41
4.2.6 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridinek előállítása	41
4.3 Az L-nukleozid-5'-difoszfátok előállítása.....	43
4.3.1 Az L-nukleozidok szintézise.....	43
4.3.2 Az 1- <i>O</i> -acetyl-2,3,5-tri- <i>O</i> -benzoil-L-ribofuranóz előállítása	43
4.3.3 Az L-citidin, L-adenozin és L-uridin előállítása.....	44
4.3.4 Az L-citidin- és az L-adenozin-5'-mono és 5'-difoszfátok előállítása	45
4.4 A biológiai vizsgálatok eredményei	48
4.4.1 Az <i>in vitro</i> citotoxicitás vizsgálat	48
4.4.2 Antivirális vizsgálat eredményei.....	49
4.4.3 Az adenozin- és a citidin-difoszfátok vizsgálata	50
5. Összefoglalás, eredmények	53
6. Kísérleti rész.....	55
6.1 Alkalmazott műszerek, vegyszerek, analitikai módszerek	55
6.2 <i>In vitro</i> citotxicitás vizsgálatok	56
6.3 Reagensok és katalizátorok előállítása	58
6.4 A szintézisek során alkalmazott általános módszerek	59

6.5	Az 5-(klór/bróm/ jód)- <i>ara</i> -L-uridinek szintézise	61
6.6	Az 5-tienil- és az 5-(5-(klór/ bróm/ jód)-tien-2-il)- <i>ara</i> -L-uridinek előállítása	65
6.7	Az 5-(klór/ bróm/ jód)- <i>ara</i> -L-citidinek előállítása.....	68
6.8	Az 5-(2-tienil)- és az 5-(5-(klór/bróm/ jód)-tien-2-il)- <i>ara</i> -L-citidinek előállítása.....	71
6.9	A bázismódosított 2,2'-anhidro-L-uridinek előállítása	74
6.10	A bázismódosított L-uridinek előállítása.....	76
6.11	A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridinek előállítása	78
6.12	A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridinek előállítása	80
6.13	A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridinek előállítása.....	84
6.14	A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridinek előállítása.....	86
6.15	Az L-citidin és az L-citidin előállítása Vorbrüggen kapcsolással	88
6.16	Az L-adenozin-5'-mono- és az 5'-difoszfát előállítása	90
6.17	Az L-uridin előállítása Vorbrüggen kapcsolással.....	93
7.	Irodalomjegyzék.....	94
8.	Az értekezés alapjául szolgáló cikkek.....	102
9.	Rövidítések jegyzéke.....	103
10.	Melléklet.....	107
	Összefoglalás.....	113
	Summary	114

1. Bevezetés

Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization) 2001-ből származó adatai szerint világviszonylatban 36.1 millió ember fertőzött emberi immunhiányt okozó vírussal (HIV) és körülbelül 170 millió a hepatitis C vírussal (HCV) és több mint 350 millió a hepatitis B vírussal (HBV) fertőzöttek száma.¹ A számok sajnálatos módon évről évre növekszenek ami azt az üzenetet hordozza, hogy több és hatékonyabb antivirális szerre lenne szükség. Az antivirális hatóanyagok piaca 8 milliárd USA dollár értéket képvisel és ezen belül az anti-HIV hatóanyagok forgalma elérte az 5 milliárd USA dollárt. Míg 1990-ben mindössze 5 anti-HIV hatóanyag létezett a piacon, addig 2012-ben már 26 engedélyezett hatóanyag van forgalomban.² Napjainkban a hepatitis C vírussal fertőzöttek kezelésére több mint 40 potenciális gyógyszerjelölt van kísérleti stádiumban azonban a telaprevir és boceprevir hatóanyagokon kívül nincs más közvetlen hatású szer klinikai használatban. A bemutatott adatok tehát egyértelműen jelzik az antivirális hatóanyagok intenzív kutatása iránti igényt.

Vírusfertőzések elleni terápiás szerek jelen arzenálja évtizedek kémiai és biológiai kutatásának eredményeként jött létre és számos nukleozidot és nukleozid analógot tartalmaz.^{2,3} Hosszú ideig a kutatók azt feltételezték, hogy a nukleozid analógok csak természetes D-konfigurációjú szerkezetükben lehetnek hatékonyak az élő rendszerben működő enzimek sztereospecifitása miatt. Az 1990-es években azonban ezek a feltételezések a biológiai rendszerek mélyebb ismerete alapján módosultak és az L-nukleozidok kutatása egyre inkább előtérbe került új antivirális hatóanyagok kifejlesztésére. Bár az első L-nukleozid szintézist már 1964-ben leírták⁴ a lamivudin (3TC) felfedezéséig^{5,6,7} az L-nukleozidok szintézisét nem kísérte nagyobb érdeklődés. Ezután viszont nagy számú L-nukleozid analógot állítottak elő és antivirális hatásukat tesztelték.⁸ A kutatási eredmények egyértelműen jelezték, hogy az L-nukleozid analógok antivirális aktivitása sok esetben hasonló, de általában meghaladja a D-konfigurációjú analógok hatását és e származékok kedvezőbb toxikológiai profillal és nagyobb metabolikus stabilitással bírnak. Az L-nukleozidok terápiás potenciálja azonban nem korlátozódik csak az antivirális hatásmódhoz. Az L-adenozin és az L-timidin malária elleni hatással rendelkeznek.⁹ Ezen túlmenően a troxacitabin (2*S*, 3*S*)-1-[2-hidroximetil-1,3-dioxolán-4-il]-citozin hasnyálmirigy tumor és mieloid leukémia elleni hatása miatt került kifejlesztésre.¹⁰

Új antivirális nukleozid hatóanyagok kifejlesztése során mind a heterociklusos bázisok mind a szénhidrát-komponensek szerkezetük módosítása számos esetben biológialig aktív új

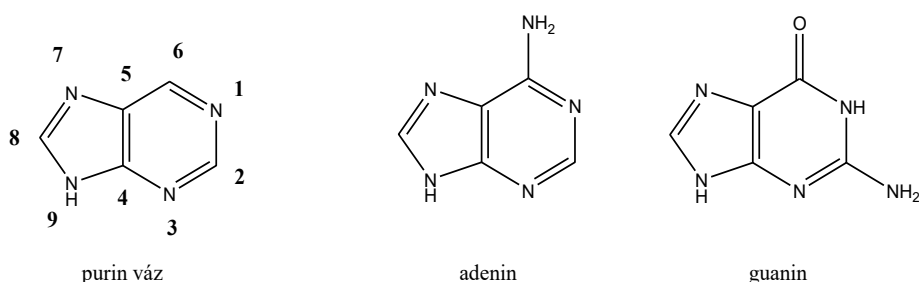
molekulákat eredményezett. A heterociklusos bázis szerkezeti módosításai lehetnek a) halogénszubsztitúció, b) alifás szénlánc beépítése (alkil-, alkenil-, alkinil-), c) aromás vagy heteroaromás csoport beépítése. A D-ribofuranóz szénhidrát-komponens lehetséges módosításai lehetnek a) a hidroxil-csoportot viselő szénatom konfigurációjának inverziója, b) a hidroxil-csoport eliminációjával dezoxi-, dideoxi- vagy dideoxi-didehidro-nukleozidok képzése, c) a hidroxil csoport más funkciós csoportokra történő cseréje, d) a cukorgyűrű felnyitásával aciklusos származékok előállítása, e) az endociklusos oxigénatom helyett metilén vagy kén izoszterek képzése, f) a kénatom gyűrűn belüli helyzetének változtatása és g) egy második heteroatommal öttagú gyűrűs származékok szintézise.

A fentiek alapján egyik kísérleti célkitűzésünk az irodalomban nem publikált 5-halogén, 5-tienil és 5-(5-halogéntien-2-il)-*ara*-L-uridíneket és a megfelelő citidín származékaikat tartalmazó vegyületkönyvtár előállítására irányult. További célkitűzésként szerepel egy olyan új vegyületkönyvtár létrehozása, amely a 2' szénatomon különböző szubsztituensekkel (például halogén, azid) módosított ribo konfigurációjú 2'-dezoxi-2'-(halogén- illetve azid-)-L-uridinek és ezek 5-jód illetve 5-tienil származékait tartalmazza. Az előállított vegyületekkel tervezett szerkezet-hatás vizsgálatokból pedig arra keressük a választ, hogy a megjelenő cititoxicitás illetve antivirális hatás milyen mértékben köthető a bázisrész illetve a cukorrész módosításához.

2. Irodalmi áttekintés

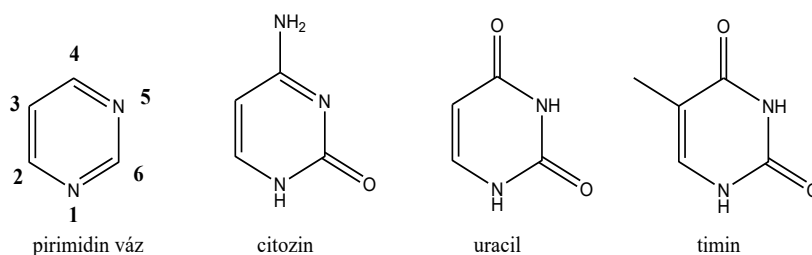
2.1 A nukleinsavak és nukleozidok felfedezése, szerkezete és biológiai funkciója¹¹

Az első nukleinsavat Miescher izolálta a gennysejtek magvából 1868-ban. A savas jellegű, híg lúgban oldódó, foszfortartalmú anyagot, *nuclein*-nek nevezte el. A magyar Plosz Pál volt az első, aki ezeket az eredményeket más sejteken is megismételte.^{12,13} Minden élő szervezetben előforduló nukleinsavak a dezoxiribonukleinsav (DNS) és a ribonukleinsav (RNS). Az RNS cukorkomponense a D-ribóz, míg a DNS molekulában 2-dezoxi-D-ribóz található. A DNS molekulák nukleozid építőelemei az adenozin (A), a guanidin (G), a citidin (C), és a timidin (T), az RNS molekulákat pedig az A, a G, a C és az uridin (U) építi fel. Az adenin (6-aminopurin) és a guanin (2-amino-6-oxipurin) purin bázisok (1. ábra),



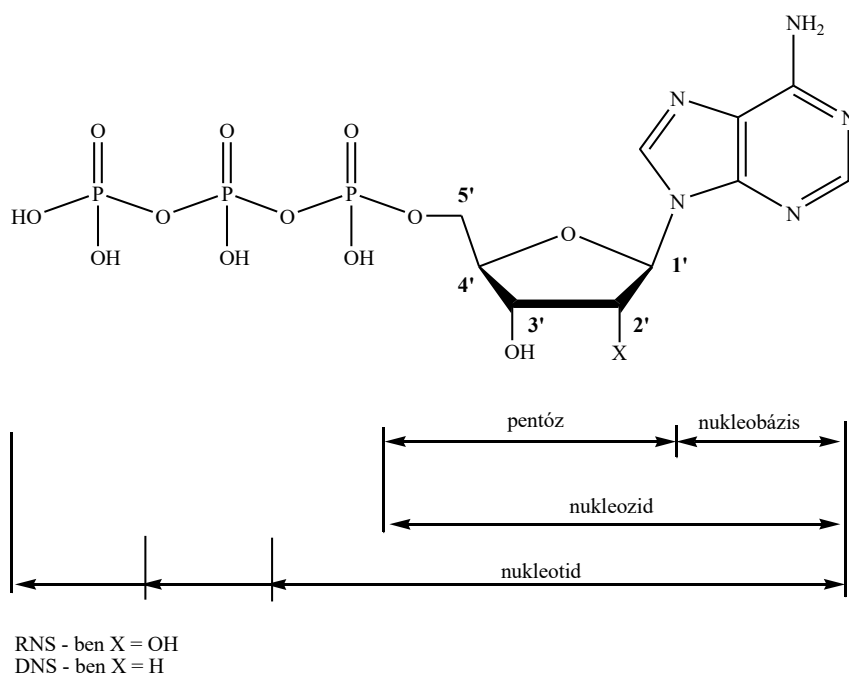
1. ábra A purin váz és a purinbázisok szerkezete.

míg a citozin (4-aminopiridin-2-on), az uracil (pirimidin-2,4-dion) és a timin (5-metilpirimidin-2,4-dion) pirimidinbázisok (2. ábra). A felsorolt bázisokon kívül, lényegesen kisebb mennyiségben több mint százféle más származék, ún. ritka bázisok is találhatóak a különböző polinukleotidokban.



2. ábra A pirimidin váz és a pirimidinbázisok szerkezete.

A mono-nukleotidok három szerkezeti elem a N-tartalmú bázis, az öt szénatomos cukor (D-ribóz vagy 2'-dezoxi-D-ribóz), és foszfátok (mono-, di- vagy trifoszfát) kondenzációja során képződnek (3. ábra). A ribonukleotidokban D-ribóz, a dezoxiribonukleotidokban a 2-dezoxi-D-ribóz glikozidos C^1 atomja kapcsolódik a bázisok nitrogénjéhez (β -N-glikozidok), a pirimidinbázis esetén az N^1 , míg a purinbázis esetén az N^9 atomokhoz. A cukor minden esetben D-furanóz konfigurációjú. A szénhidrát komponens miatt a nukleozidok vízben jól oldódnak. Ha a nukleozidokban a cukorrész szabad hidroxilcsoportja foszfáttal észtert képez, nukleotidok képződnek. A nukleozidokban a foszfát a D-ribóz 2', 3' és az 5' hidroxilcsoportjához is kapcsolódhat. A kémiai és enzimatis vizsgálatok egyértelműen igazolták, hogy mind az RNS, mind pedig a DNS nukleotid egységei 3'-5' foszfodiészter kötéssel kapcsolódnak össze.¹⁴



3. ábra A nukleozidok és a nukleotidok szerkezetének szemléltetése az adenzin-5'-trifoszfát szerkezetének példáján.

A közös mononukleotidok difoszfát és trifoszfát formában is megtalálhatók a sejtekben. A második és a harmadik foszfátcsoporthoz az előzőhöz savanhidridkötéssel kapcsolódik. Az első nukleozid szintézis Fischer és Helferich¹⁵ nevéhez fűződik (1914). A természetes ribonukleozidok szintézisét Todd és munkatársai¹⁶ oldották meg (1947). Chargaff¹⁷ 1950-ben megfigyelte, hogy a DNS-ben a purinbázisok molarányának összege közel azonos a pirimidinbázisokéval, sőt az adenin (A) molaránya megegyezik a timinével (T), valamint a guanidíné (G) a citozinével (C) (Chargaff szabályok), amely a DNS háromdimenziós

szerkezetének igazolása során alapul szolgált (Watson és Crick, 1953).¹⁸ Felfedezésük érthetővé tette az örökítő anyag működésének molekuláris mechanizmusát. A nukleotidok a sejtek anyagcseréjében többféle funkciót töltenek be. A nukleozid-trifoszfátok (ATP, GTP, UTP) a sejtek primer kémiai energiahordozója, nagy energiájú foszfátot szállít az energiatermelő reakcióktól az energiaigényes folyamatokhoz. A nukleozidok a csoportátviteli (cukrok, acetát, aminok) reakciókban is szerepet játszanak. Az UTP a glükózzal uridin-difoszfó-glükózt képez, ami a glikogénszintézisben glikozil donorként funkcionál. A nukleozid-5'-trifoszfát molekulák a DNS és az RNS enzimatisz szintézisének nagy energiájú prekursorai. A nukleotid tartalmú vagy a nukleotidokkal analóg felépítésű koenzimek az anyag- és energiaforgalom szempontjából jelentős reakcióban közvetítő szerepet töltenek be. A nikotinamid-adenin-dinukleotid (NADH) és a flavin-adenin-dinukleotid (FAD) számos dehidrogenáz enzim koenzimje. A zsírsavak szintézisében fontos szerepet betöltő koenzim A (CoA) az acilcsoport átvitelében vesz részt.

2.2 Módosított nukleozidok antivirális és tumorgátló hatása

2.2.1 A vírusok és a vírusok életciklusa

A vírusok egy fehérjeburokba (kapszid) csomagolt genetikai információt tároló nukleinsavat és egyes esetekben enzimeket is tartalmazó mikroorganizmusok. Önmagukban nem képesek szaporodni, ezért gazdasejteket fertőznek meg és az örökítőanyagukat a célsejtbe juttatva megváltoztatják a gazdasejt anyagcseréjét oly módon, hogy az a vírust replikálja. Az új vírusok felgyülemlenek a sejten belül, ami egy idő múlva felreped és elpusztul. A vírusok az örökítő anyaguk alapján két típusba sorolhatók a DNS és az RNS vírusok. A DNS-vírusok a herpesz simplex vírusok (HSV-1, HSV-2), a variolavírus (fekete himlő), a varicella zoster VZV (bárányhimlő), a citomegalovírus (CMV), az Epstein-Barr-vírus (EBV) és a hepatitisz B vírus (HBV). Az RNS vírusok a DNS vírusoktól eltérően a fertőzés során az örökítőanyag mellett egy reverz transzkriptáz (RT) enzimet is bejuttatnak a gazdasejtbe, aminek a segítségével elkészül az egyszálú virális RNS minta alapján a kétszálú DNS, ami beépülhet a gazdasejt genomjába. Jellegzetes képviselőik az elsőként felfedezett dohánymozaik vírus (TMV), az influenza vírus (B és C csak emberben, az A pedig házi- és vadállatokban is szaporodhat), a poliovírus (járványos gyermekbénulás), a hepatitisz A és C vírus és a HIV-1 és HIV-2 vírus is.

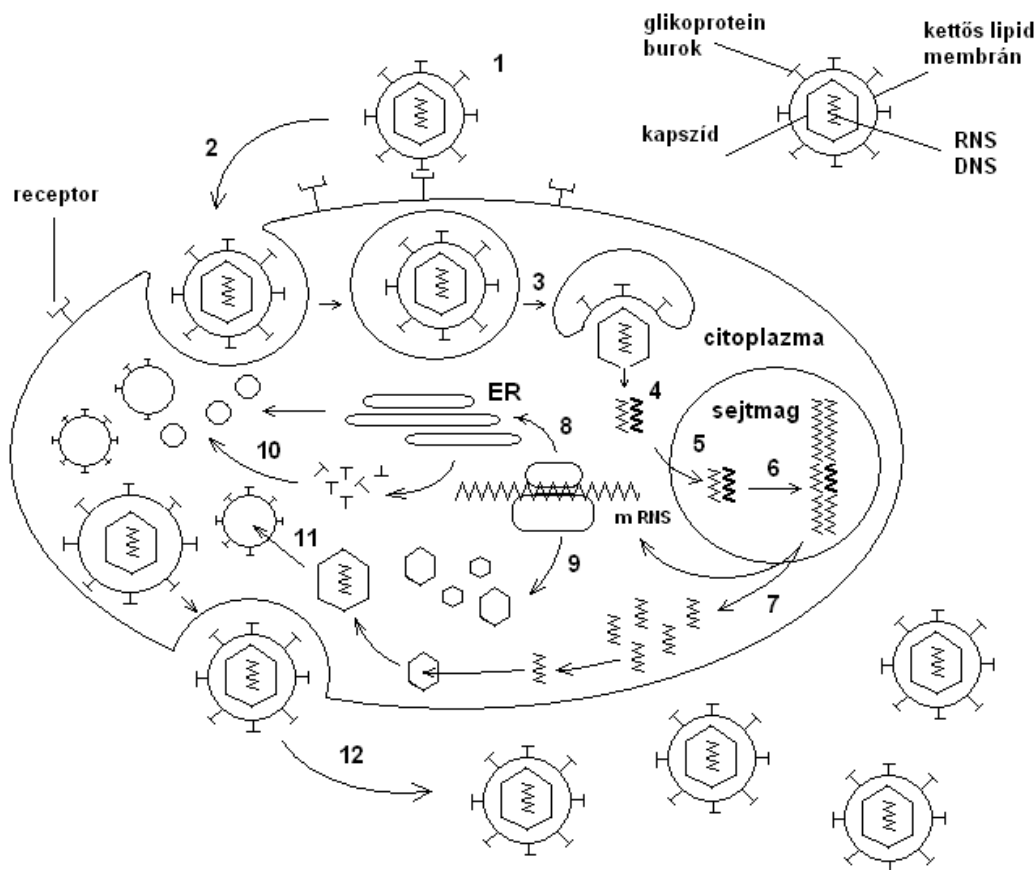
2.2.2 Az antivirális szerek és hatásmechanizmusuk

A vírusfertőzés ellen az egyik megoldás a védőoltások alkalmazása. A vakcinák alkalmazása során a szervezetbe bejuttatott anyag (régebben legyengített vagy megölt vírusok, jelenleg csak a patogenitásért felelős fehérje) immunválaszt vált ki. A vakcinák azonban csak a stabil vírusok ellen hatásosak. A fertőzött páciensek esetében azonban már csak limitáltan lehet alkalmazni. A gyorsan mutálódó vírusok mint például az influenza vagy a HIV esetén a vakcinák csak korlátozottan használhatók, mert a gyors vírusmutációnak köszönhetően olyan új mutánsok keletkeznek, amelyeket az immunrendszer már nem ismer fel. Ilyen esetekben az antivirális szerek alkalmazása jelenti a megoldást.

Az első antivirális szereket az 1960-as években fedezték fel a hagyományos „random screening” (próba-szerencse) stratégiával. Ez azonban meglehetősen időigényes kutatási stratégia. A modern antivirális gyógyszertervezés célpontjai a vírus által bejuttatott vagy a vírus szaporodásához használt gazdasejt enzimek ún. vírus indukálta kinázok gátlása. Míg a fehérjeburok fehérjei gyorsan változnak a mutációval, addig a szaporodáshoz szükséges enzimek változatlanok maradnak és általában több vírustörzsben is megegyeznek.

Természetes anyagokból, mint például egyes gombafajokból¹⁹ és egyes eukaliptusz félék olajából²⁰ is sikerült antivirális hatású anyagokat izolálni.

Számos mód létezik a vírus életciklusa egyes szakaszainak gátlására (4. ábra). A sejtbe történő behatolása előtt kétféleképpen gátolhatjuk a vírus a sejthez történő kapcsolódását. Egyik esetben a sejt felületén lévő receptorokat gátoljuk valamilyen vírust utánozó fehérjével, a másik esetben pedig a vírus kötőfehérjét gátoljuk sejtreceptort utánozó fehérjével. Számos a vírus sejtbe jutását gátló hatóanyagot sikerült előállítani.^{21,22} Ezek a kávésav, (a herpeszvírus tapadását gátolja), az ϵ -amino-kapronsav, a morxidine, az amantadine, a rimantadine és a pleconaril (influenza vírusok).²³ A virális örökítőanyagának a humán DNS molekulába történő beépülésének gátlása szintén egy módja a vírusfertőzés megakadályozásának. A vírus által indukált reverz transzkriptáz (a vírus genetikai információit hordozó RNS molekuláról a gazdasejtben DNS molekulát készít) gátlása szintén hatékony megoldás. A lamivudin például azért bizonyult hatásosnak a hepatitisz B ellen, mert a HBV is reverz transzkriptázt használ a szaporodásához. Az integrázok gátlása, amelyek a virális genomot illesztik be a gazdasejtbe, hasonlóan vonzó stratégia lehet.



4. ábra A vírus szerkezete és szaporodása. 1) A vírus kötődése a sejthez a sejt felületén található receptorok segítségével, 2) A vírus bejutása a sejtbe, 3) A vírus burkának lebomlása, a kapszid felnyílása és a virális örökítőanyag (DNS, RNS) felszabadulása, 4) reverz transzkriptáz kiegészíti az virális RNS-t DNS szállá, 5) A virális DNS bejut a sejtmagba, 6) A virális DNS integrázok segítségével beépül a gazdasejt genomjába, 7) A vírus indukálta vagy gazdasejt kinázok segítségével elkezdődik a virális örökítőanyag másolatainak készítése, 8) mRNS alapján elkezdődik a vírusfehérjék szintézise, 9) a virális vagy gazdasejt proteázok megfelelő méretűre szabják a kapszid fehérjéit, 10) A vírus receptorainak beépülése a kettős lipidmembránba, 11) A vírus összeszerelése, 12) A vírus kiszabadul a gazdasejtből.

A 3-foszfoglicerát-kináz (PGK), a nukleozid difoszfát kináz (NDPK), a kreatin kináz (CK) és a piruvát kináz (PK) végzik a nukleozidok trifoszfátokká alakítását, így gátlásukkal a nukleozidoknak az örökítő anyagba való beépülést akadályozhatjuk meg. A DNS és az RNS molekulákat szintetizáló enzimek irreverzibilis gátlása módosított nukleozidok vagy nukleotid analógokkal egy újabb lehetőséget kínál a vírus szaporodásának a lassítására. Az első ilyen típusú eredményes antivirális szer a pirimidin nukleozid analóg aciklovir²⁴ volt, ami a herpesz vírusok ellen bizonyult hatásosnak. Az aciklovir mellett az 5-brómvinil-2'-dezoxi-uridint

(brivudin) és az 5-izopropil-2'-dezoxi-uridint²⁵ herpesz elleni kenőcsökben is alkalmazzák (Hevizos)²⁶. Ugyancsak virális DNS polimeráz gátló származékok a cidofovir, a ganciclovir és a zidovudin (AZT). A láncnövekedés gátlásával is hátráltatni lehet a vírus szaporodását. A 3'-dezoxi nukleozid származékok beépülése esetén lánctermináció következik be. A 3'-hidroxil csoportot tartalmazó módosított nukleozidok képesek beépülni az készülő virális örökítőanyagba anélkül, hogy annak továbbépülését megakadályozzák. Azonban a nagy szelektivitású hibajavító enzimek a hibás nukleozidot észrevéve a már elkészült DNS feldarabolását indítják el. A gazdasejtbe beépült a virális genom inicializálja a mRNS molekulák szintézisét ezáltal a virális fehérjék termelődését. Az mRNS termelődést az ún. transzkripció faktorok is elősegítik. Olyan hatóanyagokat is előállítottak amelyek képesek blokkolni a transzkripció faktorok kötődését a virális DNS molekulához. Az antiszensz géncsillapítás is egy lehetséges módja a vírusok elleni küzdelemnek. Az antiszensz molekulák olyan DNS vagy RNS darabok, amelyeket arra terveztek, hogy komplementer párjai legyenek a virális genom kritikus részeinek és ezekhez kötődve megakadályozzák a virális genom működését. Egy ilyen típusú antiszensz hatóanyag a formivisen néven forgalmazott készítmény^{27,28,29}, amelyet az AIDS betegségben szenvedők elkerülhetetlen cytomegalovírus által okozott szemfertőzésének a megakadályozására használnak. Ígéretes antiszensz molekulák a morfolino oligonukleotidok, amelyek a természetes nukleozidok penta-furanozidja helyett morfolint tartalmaznak. Kísérletek folynak calicivírus,³⁰ a nyugat-nílusi lázat okozó vírus (WNV),³¹ dengue vírus,³² hepatitisz C vírus (HCV)³³ és a koronavírusok³⁴ okozta fertőzések visszaszorítására. Számos vírus tartalmaz proteáz enzimeket is, amelyek megfelelő méretűre vágják a virális tok kialakításához szükséges fehérjéket. A HIV proteáz gátlása ezért szintén számos kutatás célja.³⁵ Természetes proteáz inhibitor a szerin proteáz inhibitor amely a shiitake (*Lentinus edodes*) gombából izolálható.^{36,37} A rifampicin hatóanyag a virális örökítőanyag capsidba jutását, ezáltal a vírus „összeszerelését” gátolja.³⁸ További lehetőség a virális fertőzés továbbterjedésének a megakadályozására a gazdasejtből az új vírusok kiszabadulásának gátlása. E célra a zanamivir és oseltamivir hatóanyagok³⁹ használhatók.

2.2.3 A tumorok és kiváltó okaik

A rákbetegségek kiváltó okairól mindmáig hiányos ismeretekkel rendelkezünk. Feltehetően nem egyetlen kiváltó okot kell keresni, mert közzismert, hogy számtalan külső és belső tényező és örökletes tényezők együttes jelenléte és kölcsönhatása eredményezi a rákos folyamat

kialakulását. A rákkeltő tényezők három csoportját különböztetjük meg, a kémiai, a fizikai (ionizáló sugárzás és UV-sugárzás) és a biológiai karcinogéneket. A biológiai rákkeltő hatásúak a különféle mikroorganizmusok, amelyek általában a tartós gyulladás fenntartásával járulnak hozzá a rákbetegség kialakulásához. A vírusok (humán papilloma vírus (HPV), a HIV, illetve a hepatitisz B és C vírusok) a sejtek génállományával kapcsolatba lépve módosíthatják azokat, előidézve a tumorhoz vezető elváltozásokat. A sejtburjánzás egyetlen, genetikailag megváltozott testi sejt osztódásai révén alakul ki. Az onkogének (sejt szaporodást szabályozó gének), a tumor-szuppresszor gének (a tumor kifejlődését megakadályozó gének), a DNS-javító gének (például a p53) és a programozott sejthalált befolyásoló gének működésében történt változás vezethet általában a rák kialakulásához.

2.2.4 A tumorgátló szerek és hatásmechanizmusuk

A rák egy gyűjtőfogalom, amely minden rosszindulatú sejtburjánzással járó folyamatot magába foglal. Mivel a tumorsejt intenzív anyagcserét folytat, nagy mennyiségű módosított nukleozidot is képes beépíteni az örökítő anyagába. A 3'-deoxi-nukleozid származékok beépülése esetén azonnali lánctermináció következik be. A 3'-hidroxil csoportot tartalmazó módosított származékok beépülése nem akadályozza meg a DNS szintézisét, azonban a kettős hélix kialakulását gátolja.

A citosztatikumokat (sejtmérgeket) hatásuk alapján három nagy csoportot alkotnak, ezek az antimetabolitok, a biológiai alkilezőszerek és a vegyes hatású citosztatikumok. Az antimetabolitok a sejtek normális életműködésébe avatkoznak be és gátolják a DNS és az RNS sejten belüli bioszintézisét. Folsav-antagonista hatású vegyületek, amelyek reverzibilisen gátolják a folsavat tetrahidrofolsavvá redukáló dihidrofolát-reduktáz enzim működését. A folsav-anyagcsere ezen lépésének gátlása korlátozza a purinszintézishez és a deoxiuridilát-timidilát átalakuláshoz nélkülözhetetlen egyszénatomos fragmentumok kínálatát, ez által a DNS szintézist. Ilyen származékok az aminopterin (leukémia) és a methotrexat. A purinantagonisták csoportjába tartoznak azok az antimetabolitok, amelyek szubsztituált puringyűrűt tartalmaznak. Hatásukat az adenilsav és guanilsav szintézisének gátlásával fejtik ki. Képviselőik a 6-merkaptopurin (6-MP) és a 6-tioguanin (6-TG). Pirimidin antagonisták a 6-azauracil, az 5-fluoruracil (5-FU), és az 5-fluorcitozin (FC). Ez utóbbi két vegyület a szervezetben a 2-dezoxi-uridilsavat timidilsavvá alakító enzimrendszert gátolja. Ennek eredményeként timinhiány lép fel, mint a folsav antagonisták esetében. Az uridinnel és pszeudouridinnel nagymértékű szerkezeti hasonlóságot mutató természetes nukleozid

showdomycin (3- β -D-ribofuranozil-maleinimid) antibakteriális és antitumor hatású vegyület. Számos antagonistát nukleozidot szintetizáltak, azonban mindössze két molekula, az *ara*-D-citidin (citarabin) illetve ennek 2,2'-anhidro származéka a ciklocitidin volt hatékony a klinikai vizsgálatok során. Az *ara*-D-citidin az egészséges sejtekben dezoxicitidin-deamináz enzim hatására a hatástalan arabinozil-uracillá alakul, míg a rákos sejtekben az enzim alacsony koncentrációja miatt feldúsul, gátolva ezáltal az egyik DNS szintéziséhez nélkülözhetetlen enzim működését. Ma már tudjuk, hogy az anhidro származék még az *ara*-D-citidin-nél is erősebb citosztatikum. Aminosav antagonisták közül az L-azaszerin glutamin antagonista⁴⁰ az *S*-karbamoil-*L*-cisztein pedig aszparagin antagonista.⁴¹

A biológiai alkilezőszerek csoportjába azok a vegyületek tartoznak, melyek fiziológiai körülmények között (vizes oldat, semleges pH, 37 °C) alkilezni képesek. A keresztkötés elmélet szerint ha bifunkcionális alkilezőszerrel kovalensen egymáshoz kötünk két biológiailag fontos makromolekulát, szerencsés esetben a DNS kettős hélixének két szálát, ezzel megakadályozhatjuk a sejtosztódás során a szálak szétválását.^{42,43} Ilyen vegyületek a nitrogén mustár származékok (klórambucil, melfalán, dopan, degranol), foszfamid-mustár származékok (endoxan), meziloxi-etil-amino származékok, aziridin származékok (tretamin, altretamin, trenimon, tepa és thiotepa), metánszulfonsav észterek, dibrom-hexitek, diepoxi-származékok.

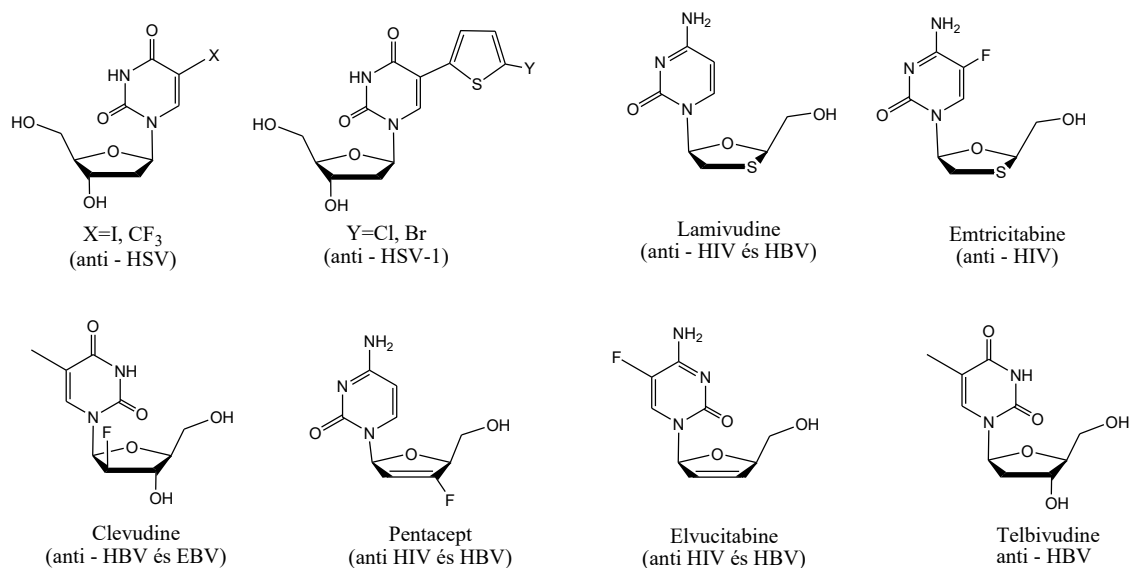
2.2.5 Antivirális és tumorgátló L-nukleozidok

Annak ellenére, hogy az elő L-nukleozidot már 1964-ben előállították⁴ a nem természetes kiralitásuk miatt hosszú ideig nem sok figyelmet szenteltek az L-nukleozidoknak. A nagy áttörést a 2'-dezoxi-3'-tio-L-citidin (3TC, lamivudin, 5. ábra)⁵ felfedezése jelentette 1991-ben. A lamivudin foszforilezésével képződik az aktív trifoszfát metabolit, amely a vírus DNS molekulájába épül be. A lamivudin kétféleképpen is kifejti hatását. A reverz transzkriptázok (HIV RT1, HIV RT2 és HVB RT) kompetitív gátlásával és a 3'-OH csoport hiánya miatt DNS szintézis láncterminátoraként funkcionál. A lamivudine volt az első olyan L-nukleozid, amely egyes vírustörzsek (HIV-1, HIV-2) esetében egy más vírustörzsek (HBV vírusok) esetében két nagyságrenddel kisebb koncentrációban is hatásosnak bizonyult a megvelelő D-enantiomerhez képest (1. táblázat).

1. táblázat A lamivudin L- és D-enantiomerjének antivirális hatása HIV-1, HIV-2 és HBV vírustörzseken.

Vírusterzs	EC ₅₀ (μM)	
	L-enantiomer	D-enantiomer
HIV-1	0.002	0.200
HIV-2	0.020	0.500
HBV	0.010	0.500

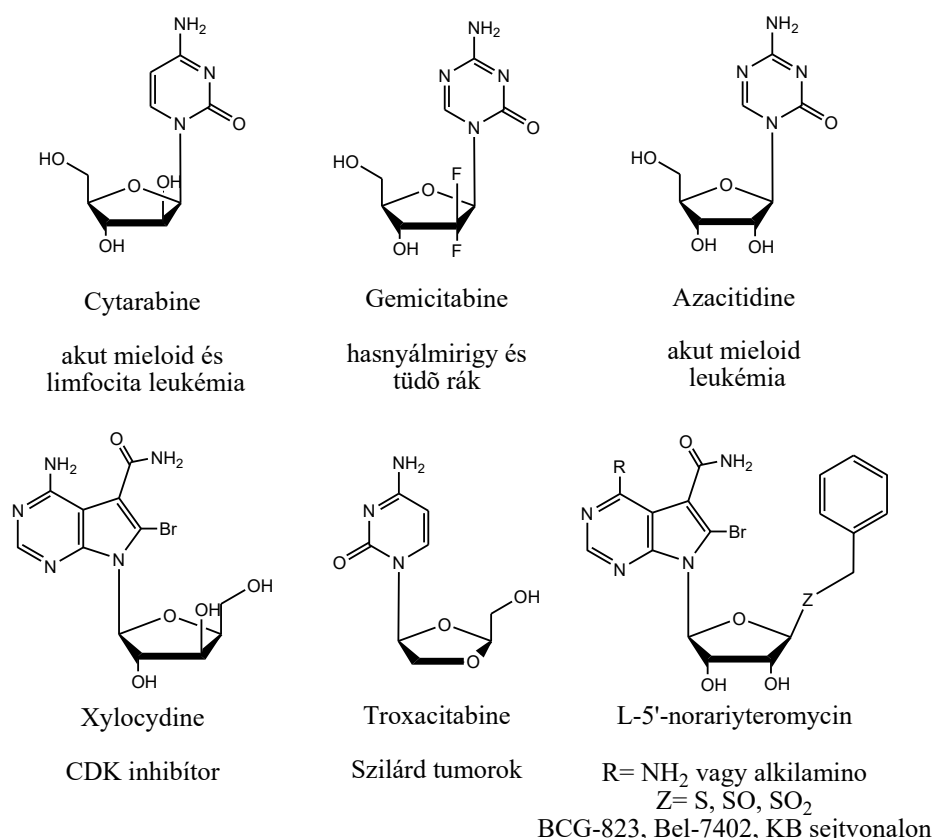
Érdemes azonban megjegyezni, hogy a lamivudin teljesen rezisztens a dezoxicitidin-dezamináz dezamináló aktivitására⁴⁴ és a mellékhatás profilja is sokkal kedvezőbb volt, mint a D-antipódé. A lamivudin 5-fluor származéka az (FTC, emtricitabine) a szülővegyülethez hasonló antivirális hatással és rezisztencia tulajdonsággal rendelkezik.⁴⁵ A kiváló anti-HIV hatásának és nagy metabolikus stabilitásának köszönhetően a tenofovir dizoproxil-fumaráttal kombinálva (TDF) az egyik leghatásosabb HIV ellenes szer (TruvadaTM).⁴⁶



5. ábra Antivirális hatású D- és L-nukleozidok.

A korábbi oxatiolán származékhoz hasonlóan számos származék a 2',3'-didezoxi-2',3'-didehidro-L-citidin (L-d4C) analógok mint például az 5-fluoro-β-L-d4C (elvucitabin)⁴⁷, β-L-2'-fluoro-d4C és a β-L-3'-fluoro-d4C (pentacept)⁴⁸ figyelemre méltó anti-HIV és anti-HBV aktivitással bír. A D-enantiomerekkel ellentétben csak kevés 2'-dezoxi-L-nukleozidnak van

említésre méltó hatása. Érdekes módon a természetes 2'-dezinukleozidok tükörképi párjai a herpes simplex vírus I timidin-kinázának (HSV-1 TK) szelektív szubsztrátjainak és kompetitív inhibitorainak bizonyultak a következő sorrendben: L-dT>>L-dG>L-dU>L-dC>L-dA.⁴⁹ Ennek következménye, hogy az L-dT markánsan csökkentette a HSV-1 szaporodását a HeLa sejteken minden mellékhatás nélkül.⁴⁹ Ezenkívül az L-dT (telbivudine) és az L-dC (valtorcitabine) 3'-O-valin észtere kiváló és szelektív anti-HBV (de nem anti-HIV) hatást mutatott az erős HBV DNA polimeráz gátlása miatt.⁵⁰ Ezen előnyös tulajdonságok miatt a krónikus HBV fertőzöttek kezelésére használják 2007 óta. A fent említett 2',3'-dideozoxi- és 2'-dezoxi-L-nukleozidok mellett az L-ribonukleozidok is figyelemre méltó biológiai hatással rendelkeznek. Például az L-adenozin és az L-timidin potenciális jelöltek a malária elleni kemoterápiában.⁹ Az 1-(β-L-ribofuranozil)-2-izopropilamino-5,6-diklór-benzimidazol (maribavir) rendkívül hatásosnak és szelektívnek bizonyult a humán citomegalovírus (HCMV) és az Epstein-Barr vírus (EBV) ellen.⁵¹ Mindkét esetben az antivirális aktivitás a virális protein kináz gátlására vezethető vissza.⁵²



6. ábra A rákterápiában használatos D- és L-nukleozidok.

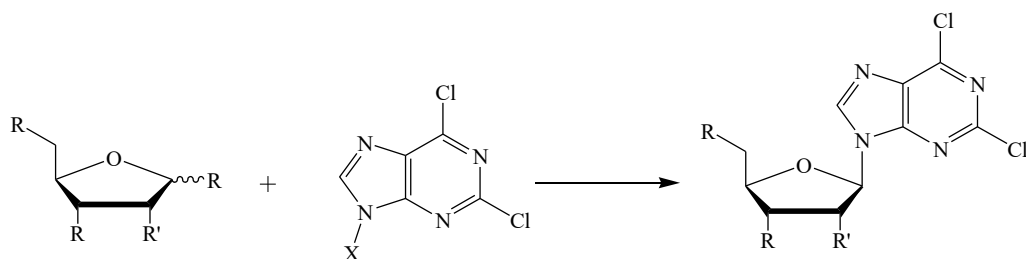
Egyes L-nukleozidoknak azonban nem csak antivirális, hanem rákellenes hatása is van. A 2'-deoxi-3'-oxa-L-citidin (β -L-OddC, troxacitabin) az anti-HIV és anti-HBV aktivitás mellett a korábbi analógokkal ellentétben erősen gátolta a sejtnövekedést egyes sejtvonalakon beleértve a PBM, HepG2, CEM és Vero sejtvonalakat is.⁵³ A troxacitabin jelenetős citotoxicitása a DNS polimerázok (α , β és γ) gátlásának tudható be. Ennek a szelektív toxicitásnak köszönhetően potenciális daganatellenes szerként tartják számon bizonyos ráktípusok ellen (máj, hasnyálmirigy és prosztata).⁵⁴ Előrehaladott klinikai vizsgálatok bizonyítják, hogy a troxacitabin nem csak szilárd tumorokon hanem limfómákon is hatásosnak bizonyult, például az akut leukémia kezelésében.⁵⁵ Az előbb bemutatott példák világosan mutatják, hogy a nem természetes L-nukleozidok különböző bázis- és cukorrész módosításai számos biológiai hatás változást okoznak. Bár ezen nukleozidok D-enantiomerei is rendelkeznek antivirális és/vagy antitumor hatással, az L-antipód a legtöbb esetben nagyobb metabolikus stabilitással és enyhébb citotoxicitással rendelkezik. Mindezek eredményeként jelenleg már számos antivirális² (5. ábra) és tumorgátló (6. ábra) nukleozid származék van a klinikai vizsgálatok különböző stádiumaiban és közülük néhányat már gyógyszerként is törzskönyveztek.

2.3 Módosított nukleozidok előállítása

2.3.1 A nukleozidok szintézise

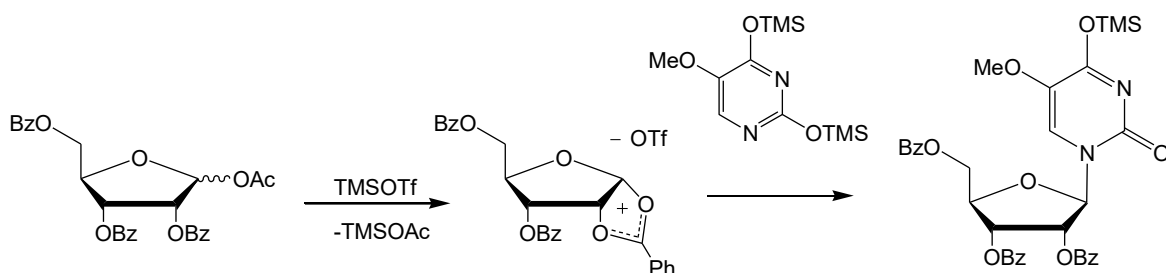
Nukleozidokat biológiai mintákból is izolálhatók, azonban egyszerűbb a szintetikus kémiai előállítás. A nukleozidokat, mint *N*-glikozidokat legegyszerűbben egy aktivált, elektrofil szénatomot (anomer szénatom) tartalmazó védett cukorszármazék (ribóz, 2-dezoxiribóz) és a nukleofil jellegű pirimidin és purin bázisok vagy származékaik kapcsolásával állítjuk elő a következőkben ismertetett módszerek alapján.

A korai nukleozid-szintéziseknél alkalmazott módszer szerint a nukleozidokat heterociklus fém sóját (eredetileg ezüst¹⁵ és higany⁵⁶ sókat, újabban nátrium sót⁵⁷) és a védett cukor-halogenidd reakciójában állítjuk elő (7. ábra). A higany vegyületek toxicitása és az ezüst vegyületek költségei miatt manapság inkább a Vorbrüggen és társai által kidolgozott nukleozid szintézist használják.



7. ábra Nukleozidok előállítása a heterociklus fém sójának és a védett cukor-halogenid reakciójával. (X: Br, Cl; Y: Ag, Hg, Na)

A Vorbrüggen⁵⁸ vagy más néven szilil-Hilbert-Johnson reakció a legkíméletesebb módja a nukleozidok előállításának, amely során a szilil-védőcsoportot tartalmazó heterociklust kapcsoljuk az acil⁵⁹ vagy trimetil-szilil⁶⁰ védőcsoporttal védett cukor-származékkal Lewis sav jelenlétében (SnCl_4 , TMSOTf)⁶¹ (8. ábra). A módszer előnye, hogy a fém sókat használó eljárásnál tapasztalt oldhatósági problémák nem lépnek fel, továbbá a reakciócentrum melletti acil vagy szilil védőcsoportok részvételének köszönhetően az acetoxónium ion köztitermék képződése miatt sztereoszelektíven β -nukleozidok keletkeznek.⁶² Nem acil típusú védőcsoportok esetén α és β nukleozidok elegyét kapjuk.



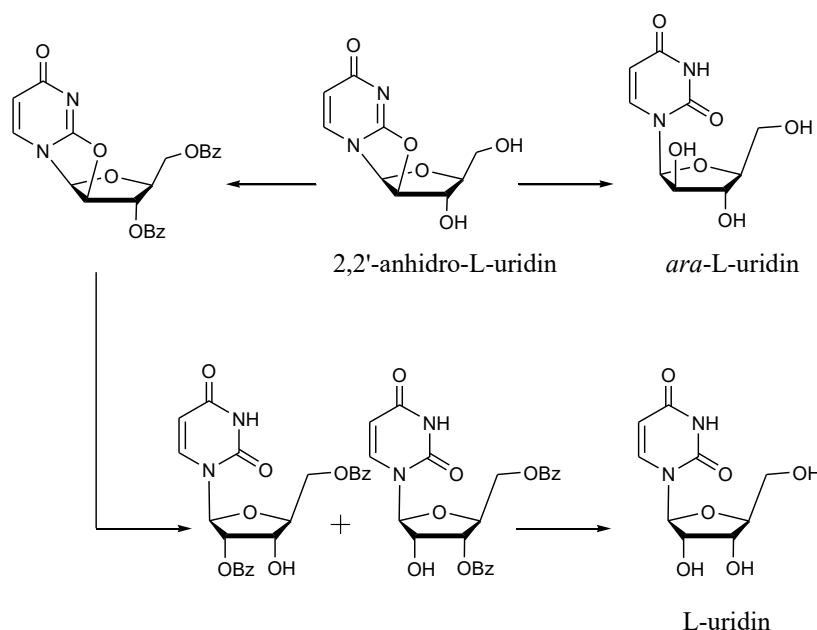
8. ábra A Vorbrüggen (Hilbert-Johnson) kapcsolás mechanizmusa.⁵⁹

A Vorbrüggen kapcsolás nyitólépése a gyűrűs karbokation képződése, amelyet a heterociklus legnukleofilebb nitrogénjének (N^1 vagy N^9) támadása követ az anomer szénatomon.^{63,64} Melléktermékként kis mennyiségben dimerek és N^3 nukleozidok is keletkezhetnek.

A nukleozidok előállítása történhet transzglikozilezéssel is. A módszer hatásosan működik pirimidin nukleozidok purin nukleozidokká alakításakor, de az alacsony hozamok miatt az eljárásnak nincs nagy gyakorlati jelentősége.⁶⁵

Az előbbieken bemutatott módszerek alkalmasak mind a D- mind pedig az L-, pirimidin és purin nukleozidok előállítására. Az L-pirimidin nukleozidok azonban előállíthatók Holy és

munkatársai⁶⁶ által kidolgozott módszer segítségével amely szerint L-arabinózból kiindulva a glikozidos szénatomon építjük fel a pirimidin bázist. Az L-arabinózt ciánamiddal reagáltatva először egy oxazolidin származékhoz jutunk, amelyet metil-propioláttal kondenzálva kapjuk a 2,2'-anhidro-L-uridint. A általunk tervezett szintézisben a 2,2'-anhidro-L-uridin egy kulcsintermedier, ugyanis ebből mind a *ribo*- mind pedig az *arabino*-konfigurációjú pirimidin L-nukleozidok is előállíthatóak (9. ábra).⁶⁷ Az *ara*-L-uridin az anhidro származék anhidro gyűrűjének lúgos felnyitásával állítható elő, míg a 3',5'-di-*O*-benzoil-2,2'-anhidro-L-uridinből kiindulva Lewis sav ($\text{BF}_3 \cdot \text{éterát}$) katalizált izomerizációval jutunk a *ribo*-konfigurációjú védett L-uridinek elegyéhez.



9. ábra A *ribo*- és az *arabino*-konfigurációjú L-uridin előállítása 2,2'-anhidro-L-uridinből.⁶⁷

2.3.2 A pirimidin nukleozidok bázis-részének módosítása 5-halogén szubsztitúcióval

2.3.2.1 Az uridinek és a citidinek 5-fluor-származékai

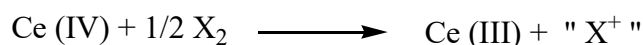
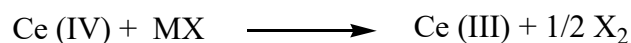
Az 5-fluoruracil származékokat elő lehet állítani 5-fluoruracil 2,4-di-*O*-metil vagy 2,4-bis(trimetilszilil)-származékainak glikozilezésével HgBr_2 segítségével.⁶⁸ Ugyancsak 5-fluoruracil származékokhoz jutunk az 5-fluoruracil trimetilszilil származékának vagy az 5-fluorcitidin glikozilezésével SnCl_4 katalizátort használva.^{69,70} Az 1-(2,3,5-tri-*O*-benzoil-D- α -arabinofuranozil)-bromid és a 5-fluoruridin higany sójának reakciójával is 5-fluor nukleozidokhoz jutunk.^{71,72} A Vorbrüggen féle kapcsolással 1-(2,3,5-tri-*O*-benzoil-D- α -

arabinofuranozil)-klorid és 5-fluoruracil reakciójával is előállíthatunk 5-fluor-nukleozid származékokat.^{73,74} Ez esetben trimetilszili-triflát katalizátort alkalmazunk. Az uridin és citidin 5-fluor-származékához juthatunk olyan módon is, hogy a megfelelő uridin vagy citidin származékot 5-pozícióban fluorozzuk. A perbenzoilezett nukleozidok elemi fluorral is fluorozhatók kloroformos/ecetsavas oldatban.^{75,76} Cézium-fluoroxisulfát reagens (CsSO_4F) is használható a nukleozidok fluorozására.⁷⁷ A trifluormetil-hipofluorit (CF_3OF) segítségével is az uridin⁷⁸ és a citidin^{79,80} fluorszármazéka állítható elő. Az acetil-hipofluorit (AcOF) mint fluorforrás ecetsavban és víz oldószerben is alkalmazható 5-fluor-citidinek és uridinek előállítására.⁸¹ Szintén hatékony fluorozószernek bizonyult a „selectfluor” (*N*-klórmetil-*N'*-fluortrietilén-diammónium-bisz-(tetrafluor-borát)) reagens is.⁸² Az 5-fluor-citidineket az 5-fluor-uridinekből szintén elő lehet állítani 4-metilmerkaptó-uridin^{83,84} vagy 4-tio-uridin⁸⁵ intermediereken keresztül, azonban sokkal jobb hozam érhető el, ha a 4-(1,2,4-triazol-1-il)pirimidin-2-on-származékon keresztül alakítjuk az uridin-származékokat a megfelelő citidin-származékokká.^{86,87,88}

2.3.2.2 Uridinek és citidinek 5-klór-származékai

Uridinek és citidinek 5-klór-származékai legegyszerűbben elemi klórral vagy *N*-klórszukcinimiddel (NCS) állíthatók elő jégecetben,^{89,90,91} jégecet-piridin elegyében⁹² vagy dimetoxi-etánban⁹³ végzett klórozással. Az acetil-védett citidin elemi klórral klórozható piridinben UV-fénnyel besugárzással katalizálva.⁹⁴ A nukleozidokat viszonylag könnyen 5-klórszármazékokká alakíthatunk jódbenzol-dikloriddal forró ecetsavban.⁹⁵ Közvetve, nátrium-azid jelenlétében *N*-klórszukcinimiddel 5-halo-6-azido-5,6-dihidro intermediereken keresztül, is előállíthatók az 5-halogén módosított származékok.⁹⁶ A halogénezés halo-szukcinimidekkel katalizátorok alkalmazása nélkül is megvalósítható ionos-folyadékokban ($[\text{MoeMim}][\text{Ms}]$).⁹⁷ Lítium-kloriddal cérium(IV)-ammónium-nitrát jelenlétében gyors redox reakcióban képződő halogén kationnal (10. ábra) acetonitril, ecetsav és metanol oldószerek használatával jó hozammal (70-90%) előállíthatóak az 5-halogén származékok.^{98,99}

Hasonló módon azonban a fluorozási reakció (LiF/CAN) nem játszódik le mivel a fluor/fluorid oxidációs potenciálja magasabb mint a cérium(IV)/cérium(III) rendszeré.



10. ábra Halogén kation előállítása *in situ* reakcióban cérium(IV)-ammónium-nitrát segítségével.

2.3.2.3 Uridinek és citidinek 5-bróm származékai

A védett és csupasz uridinek bróm-szubsztitúciójára az irodalomban számos előállítási lehetőség található. A klórszármazékok előállításához hasonlóan alkalmazható a LiBr/cérium-ammóniumnitrátos redox halogénezési reakció.^{98,99} Uridinek és citidinek 5-bróm-származékai *N*-brómszukcinimiddel előállíthatóak nátrium-aziddal katalizálva,⁹⁶ ionos folyadékban,⁹⁷ piridinben¹⁰⁰ és *N,N*-dimetilformamidban.¹⁰¹ Brómozáshoz használható NBS dimetoxietánban nátrium-aziddal katalizálva.⁹³ Uridinek és citidinek is brómozhatók az 5-ös pozícióban elemi bróm alkalmazásával vízben,^{102,103} ecetsav-anhidridben,¹⁰⁴ *N,N*-dimetilformamidban,¹⁰⁵ piridinben,^{106,107} vagy ecetsav-piridin elegyben elemi brómmal^{108,92} UV fény katalízissal.^{109,94} A 2',3',5'-tri-*O*-acetyl-uridin származékok brómozása 1,3-dibrom-5,5-dimetil-hidantoinnal aprotikus oldószerekben (DMF, acetonitril, diklórmétán) Lewis sav jelenlétében szobahőmérsékleten közel kvantitatív hozammal végezhető.^{110,111}

2.3.2.4 Uridinek és citidinek 5-jód-származékai

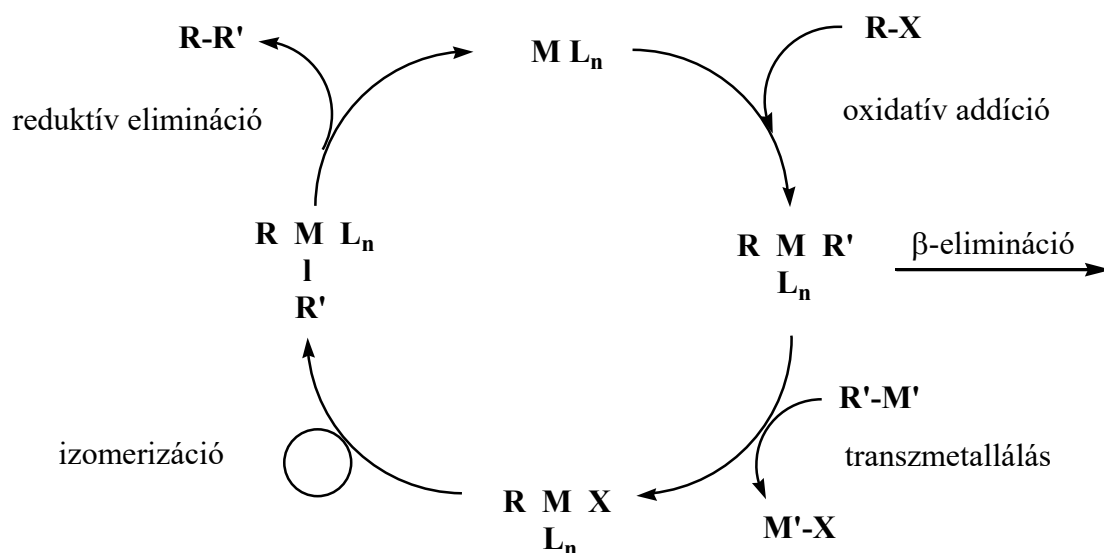
Pirimidin bázisok és nukleozidok oxidatív jódozása során oxidálószer jelenlétében (salétromsav, kénsav, jódsav vagy hidrogén-peroxid) az elemi jódolból képződő reaktív jód elektrofil (I^+) az aktív jódozó ágens. E módszerrel mind az 5-jód-uracil^{112,113} mind pedig az 5-jód-citidin származékok^{114,115} előállíthatók. Az erélyes oxidatív körülményeknek köszönhetően azonban a termékek csak közepes hozammal izolálhatók.

Az egyik legelterjedtebben alkalmazott reagens a jód-monoklorid az uridinek jódozására.^{116,95,117} A klórozáshoz és a brómozáshoz hasonlóan a cerium(IV)-ammónium-nitrát és elemi jód redox reakciójában állítható elő az elektrofil jód kationt.⁹⁹ Védett és védőcsoport nélküli nukleozidokból szintén előállíthatunk 5-jód származékokat elemi jód és ezüst(I)-szulfát segítségével metanolban.¹¹⁸ Védőcsoport nélküli uridin jódozása dioxánban jóddal, ezüst-trifluoracetát katalizátor jelenlétében szobahőmérsékleten végezhető.^{119,120} *N*-Jód-szukcinimiddel dimetilszulfoxidban di-*n*-butyl-diszulfid katalizátort alkalmazva,¹²¹ vagy

N,N-dimetilformamidban mikrohullámú besugárzás mellett¹²² Klórozáshoz és brómozáshoz hasonlóan jódozni is lehet ionos folyadéokban.⁹⁷ Uridinek 5-jód származékait Vorbrüggen reakcióval is előállíthatjuk.¹²³

2.3.3 A nukleobázisok tienil csoporttal történő alkilezése Stille és Suzuki reakciókkal

A klasszikus C-C kötést létrehozó módszerek (pl. Grignard-reakció, Wittig-reakció, cikloaddíció stb.) mellett az elmúlt 30 évben az átmenetifémek (Pd, Ni, Cu) által katalizált keresztkapcsolási (cross-coupling) reakciók jelentősen kiterjesztették a szintetikus lehetőségeket. A keresztkapcsolási reakciómechanizmusának lépéseit a 11. ábra mutatja be.



ML_n : Pd(0), Ni(0)

X: I, Br, Cl, OTf, OSO_2R , SOR, SR

M' : BR_2 , SnR_3 , ZnR, Cu, MgR, Li, MnX, HgR

11. ábra A keresztkapcsolási reakciók általános mechanizmusa.

A katalitikus folyamat nyitólépése egy szerves-halogén (R-X) vegyület oxidatív addíciója az alacsony oxidációs állapotú átmenetifémre (ML_n). A kapcsolni kívánt másik szerves molekula transzmetallálással kerül az átmeneti fémre. A *transz* elhelyezkedésű csoportok egy gyors izomerizációs lépés eredményeként *cisz*-helyzetbe kerülnek, majd reduktív eliminációval leszakad a kapcsolt termék és a katalitikus ciklus bezárul. A palládiumkatalizálta

keresztkapcsolási reakciók előnye, hogy kevésbé poláris elemorganikus vegyületek (pl. bórsav, ón, réz és szilícium reagensek) is kiválóan használhatók.

A keresztkapcsolási eljárások legelterjedtebb képviselője a Stille nevével fémjelzett reakció^{124,125} amikor a transzmetallálás ónorganikus reagensekről történik a palládiumra. Az ónorganikus vegyületek előnye, hogy viszonylag egyszerűen előállíthatóak, toleránsak a legtöbb funkciós csoporttal és készségesen transzmetallálnak palládiumra. Fő hátrányuk, hogy mérgezőek. Mivel a különböző szerves csoportok átvitele ónról palládiumra eltérő sebességgel történik (alkinil > alkenil > aril > allil >> alkil), így a leggyakrabban a megfelelő tributil-ón vagy trimetil-ón-származékot használják, amelynek három alkilcsoportja nem vesz részt a transzmetallálásban.¹²⁶ Egyes ónorganikus vegyületek és aromás halogenidek Pd(0)-val katalizált kapcsolásánál az ezüst(I)-oxid hozzáadása gyorsítja a kapcsolási reakciót.¹²⁷ A nukleozidok 5-alkilszármazékainak előállítását Stille keresztkapcsolási reakcióval trimetilsztannal és a stabilabb trietil-sztannal vegyületekkel is már leírták az irodalomban.¹²⁸ Koordinációs kölcsönhatást létrehozó oldószerek esetében (THF, dioxán) Pd(II)-katalizátort, nem koordinálódó oldószerek esetében (toluol) Pd(0)-katalizátort célszerű használni a jobb hozamok elérése érdekében.¹²⁹ Az így előállított 5-tienil és 5-furanil nukleozidokat tovább módosíthatók a tienil/furanil csoport 5''-halogénezéssel (klórozás, brómozás, jódozás) is.¹²⁹

A Stille-reakcióhoz hasonlóan gyakori C-C-kötést létrehozó Suzuki reakció¹³⁰ a szerves bórvegyületek (boránok, boronsavak, boronsav észterek) és szerves halogenidek palládium(0) által katalizált keresztkapcsolási reakciója. A folyamat során a halogenidből kialakuló ζ -kötésű átmenetifém organikus vegyület a bórvegyülettel transzmetallálási reakcióban szolgáltatja a diorganopalládium-származékot, amelynek redukzív eliminációjával jutunk a kívánt kapcsolt termékhez. Mivel a szerves bórorganikus vegyületek nukleofil jellege nem elég erős, ezért más keresztkapcsolási reakcióktól eltérően egy ekvivalens bázis (NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, Na-OEt, Ba(OH)₂, Cs₂CO₃) jelenlétére van szükség. A bórszármazékok, az ónvegyületekhez hasonlóan sokféle funkciós csoport jelenlétét tolerálják. Előnyük, hogy könnyen előállíthatók, levegőre, nedvességre nem érzékenyek és a keresztkapcsolás mellékterméke a bórsavszármazék, amely vízzel könnyen elválasztható a végterméktől. Mindezek mellett a bórvegyületek kevésbé mérgezők mint az ónorganikus vegyületek.

A tervezett 5-tienil származékok előállítását kétféleképpen lehet megvalósítani. Egyik esetben a megfelelő heteroaromás-boronsavat magas hozammal lehet Pd(OAc)₂ katalizátor alkalmazásával az 5-jód nukleoziddal keresztkapcsolási reakcióba vinni. A másik esetben¹³¹ a

keresztkapcsolással 5-módosított nukleobázist kapcsoljuk a szénhidrát-résszel.^{132,133,134,135} A boronsav származékok keresztkapcsolása esetén is használható az ezüst(I)-oxid a reakció gyorsítására.¹³⁶ Védett 5-halo-uracil Suzuki kapcsolása a heteroaromás vegyület boronsav származékával sikertelen volt, azonban a védett uracil boronsav-származékával a heteroaromás vegyület halogenidje közepes hozammal (50-70%) reagált.¹³⁷

2.3.4 A *ribo*-konfigurációjú cukor-részen módosított uridin származékok előállítása

2.3.4.1 A 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridinek előállítása

A 2'-dezoxi-2'-azido-uridin származékokat legegyszerűbben a 2,2'-anhidro-uridinből állíthatunk elő, *N,N,N,N*-tetrametil-etiléndiamin (TMEDA), lítium-fluorid jelenlétében trimetilszilil-aziddal¹³⁸ nátrium-aziddal^{139,140} vagy lítium-aziddal¹⁴¹ *N,N*-dimetilformamidban. Hexametil-foszfortriamid oldószerben lítium-aziddal benzoecav katalízissel¹²¹ állíthatók elő a 2'-dezoxi-2'-azido-uridin származékok. Az azidbevitelt előnyösen befolyásolja az azid ellenionjának a komplexálása dibenzo-18-korona-6-éterrel *N,N*-dimetilacetamidban¹⁴².

2.3.4.2 A 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridinek előállítása

A 2'-fluor nukleozidok előállítása több módon történhet. Az anhidro nukleozidokat hidrogén-fluoriddal fluorozhatjuk piridin^{143,144,145} vagy 1,4-dioxán^{146,147,148,149,76} oldószereket alkalmazva. Fluorforrásnak használhatunk kálium-fluoridot is, ez esetben koronaéter (dibenzo-[18]-korona-6)¹⁴⁵ alkalmazása szükséges az ellenion komplexálására. Az arabinofuranozil nukleozidok 2'-OH csoportjának S_N2 szubsztitúciója DAST reagenssel¹⁵⁰ vagy 2'-*O*-szulfonátok (metán, trifluormetán, imidazol és fluorszulfonát) S_N2 reakciója tetrabutil-ammónium-fluorid (TBAF) segítségével^{151, 152,153} KHF_2 és hidrogén fluorid (50% vizes oldat) alkalmazásával és^{154, 155} tozil észterek esetén KF reagenssel¹⁵⁶ állíthatók elő a megfelelő fluor-származékok. A DAST fluorozás esetén célszerű THP védőcsoport stratégiát alkalmazni.^{157,158,159} Viszonylag költséges módja a fluorozásnak a XeF_2 reagens használata.⁸⁶ A 2'-dezoxi-2'-fluor-nukleozidok előállíthatók a megfelelő 2-fluor-cukorszármazék és

nukleobázisok kapcsolásával is.^{160, 161, 162, 163} A 2'- és 3'-fluor származékok nyerhetők ha a nukleozid 2',3'-epoxidot KHF_2 , NaF reagenssekkel 2-etoxi-etanolban nyitjuk fel.¹⁶⁴

2.3.4.3 A 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridinek előállítása

A 2'-dezoxi-2'-klór származékokat 2,2'-anhidro-L-uridinből hidrogén-kloriddal állíthatunk elő 1,4-dioxán^{147,165} vagy *N,N*-dimetil-formamid^{140,166} oldószerekben. Az anhidro gyűrű felnyitható tetraklórszilán reagenssel ecetsavban,¹⁶⁷ alumínium-triklorid és bór-triklorid Lewis sav reagenssel *N,N*-dimetilacetamid oldószerben.¹⁶⁸ 2'-Klór acil-védett származékok acetyl-kloriddal is előállíthatók anhidro-uridinből acetonitrilben.^{169,170}

2.3.4.4 A 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridinek előállítása

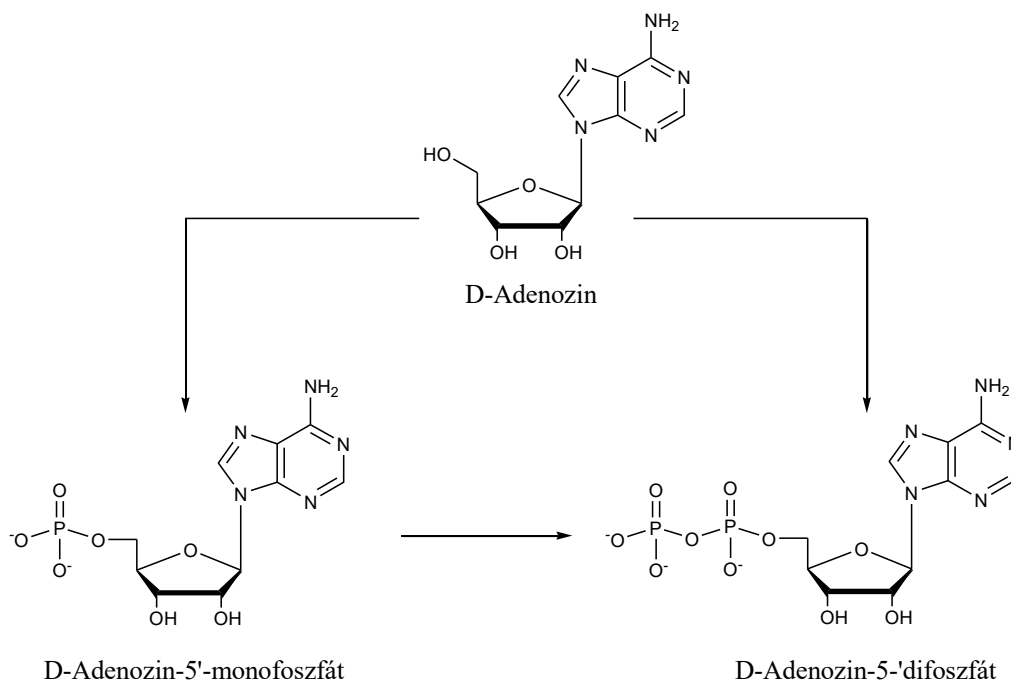
A 2'-dezoxi-2'-bróm-uridint legegyszerűbben a 2,2'-anhidro-uridinből indulva, hidrogén-bromiddal állíthatunk elő piridinben,¹⁷¹ *N,N*-dimetilformamidban^{140,172,166} valamint trifluorecetsav oldószerben védett^{173,174} és védetlen nukleozidokból.¹⁴⁷ A 2'-klórszármazékokhoz hasonlóan acetyl-bromiddal is lehet 2'-bróm acil védett származékokat előállítani anhidro-uridinből acetonitrilben.¹⁷⁰ Az Appel reakció (széntetrabromid/széntetraklorid és trifenil-foszfín) szintén alkalmazható hidroxil csoportot tartalmazó vegyületek halogén származékokká történő átalakítására.¹⁷⁵ A brómszubsztitúció elvégezhető a szilil védőcsoportot (TPDS) tartalmazó anhidro vegyülettel lítium-bromiddal, bórtrifluorid-éterát jelenlétében dioxánban.¹⁷⁶

2.3.4.5 A 2'-dezoxi-2'-jód-L-uridinek előállítása

A 2'-dezoxi-2'-jód-uridinek egyszerűen előállíthatók 2,2'-anhidro-uridinből indulva, lítium-jodiddal,^{66,177} nátrium-jodiddal, trifluorecetsav jelenlétében DMF oldószerben¹⁷⁸ vagy 4-toluol-szulfonsav monohidrát jelenlétében acetone oldószerben.^{179,180}

2.4 Nukleozid 5'-difoszfátok szintézise

A nukleozid foszfátokat az aktivált foszforszármazék és a nukleozid hidroxil csoportjának nukleofil reakciója eredményezi (12. ábra). A monofoszfátok előállítását foszforoxikloriddal végezhetjük trimetil- vagy trietil-foszfát oldószerekben¹⁸¹ Yoshikawa és munkatársai¹⁸² a tri-*n*-butil-ammonium-foszfát foszforilező reagenssel írták le a monofoszfátok előállítását.



12. ábra Nukleozid-5'-difoszfátok előállítása egy illetve két lépésben adenosin-5'-difoszfát előállításának példáján szemléltetve.

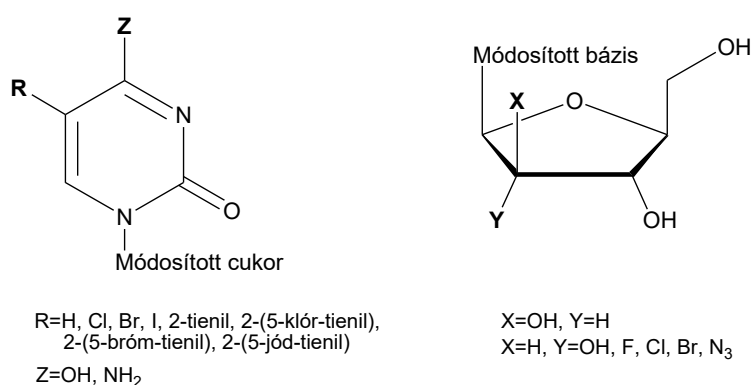
A nukleozid difoszfátok szintézise egy vagy két lépésben a nukleozid illetve a nukleozid monofoszfát foszforilezésével történhet (13. ábra). Az ADP előállításának egyik legegyszerűbb módja az AMP és foszforsav diciklohexil-karbonil-diimid (DCC) jelenlétében végzett kondenzációja.¹⁸³ Az L-CMP és tri-*n*-butilammónium-foszfát kapcsolása DCC reagenssel L-citidin-5'-*O*-difoszfát származékot eredményez.¹⁸¹ A 2',3'-di-*O*-acetyl-adenozinból kiindulva monofenil-foszfor-dikloridát reagenssel a védett 5'-monofenil-foszfokloridát köztermék képződik, amelyből ammóniával történő foszforamidátképzés után ezen intermedier és foszforsav reakciója eredményezi a kívánt difoszfátot.¹⁸⁴ Az adenosin-5'-benzilfoszfát ezüst sója és a dibenzil-klorofoszfónát reakciójában ugyancsak 5'-adenozin-difoszfát nyerhető.¹⁶

Nukleozid 5'-difoszfátok egy lépésben is előállíthatók védőcsoport nélküli¹⁸⁵ vagy 2',3'-di-*O*-izopropilidén védőcsoportot tartalmazó 5'-tozil nukleozidokból^{186,187} trisz-(tetra-*n*-butilammónium)-hidrogén-pirofoszfát reagenssel. Ugyancsak adenzin-5'-difoszfáthoz jutunk N⁶-(1-naftil)-adenozinból foszforoxikloriddal trimetilfoszfát oldószerben foszforokloridáton keresztül tri-*n*-butilammónium-dihidrogénfoszfát reagenssel.¹⁸⁸ Hasonló körülmények között állítható elő az *ara*-citidin-5'-difoszfát.¹⁸⁵ Az adenzin-5'-pirofoszfát előállítása tetrabenzil-pirofoszfát reagenssel is végrehajtható.¹⁸⁹

3. Célkitűzések

Új antivirális nukleozid hatóanyagok kifejlesztése során mind a heterociklusos bázisok mind a szénhidrát-komponensek szerkezetek módosítása biológialig aktív új molekulákat eredményezett. A heterociklusos bázis szerkezeti módosításai lehetnek a) halogénszubsztitúció, b) alifás szénlánc beépítése (alkil-, alkenil-, alkinil-), c) aromás vagy heteroaromás csoport beépítése. A D-ribofuranóz szénhidrát-komponens lehetséges módosításai lehetnek a) a hidroxil-csoportot viselő szénatom konfigurációjának inverziója, b) a hidroxil-csoport eliminációjával dezoxi-, dideoxi- vagy dideoxi-didehidro-nukleozidok képzése, c) a hidroxil csoport más funkciós csoportokra történő cseréje, d) a cukorgyűrű felnyitásával aciklusos származékok előállítása, e) az endociklusos oxigénatom helyett metilén vagy kén izoszterek képzése, f) a kénatom gyűrűn belüli helyzetének változtatása és g) egy második heteroatommal öttagú gyűrűs származékok szintézise.

Az irodalmi áttekintésben részletesen ismertetett szerkezet-hatás összefüggéseket figyelembe véve célul tűztük ki olyan új L-nukleozidok szintézisét, melyek a D-nukleozidok körében eddig felismert szerkezet-hatás összefüggések alapján potenciális antivirális és/vagy tumorgátló hatással rendelkezhetnek. A pirimidin bázisok 5-szubsztitúciójával és a cukorrész (L-ribóz) 2'-módosításának különböző kombinációival két kisebb vegyületkönyvtárat terveztünk előállítani (13. ábra).

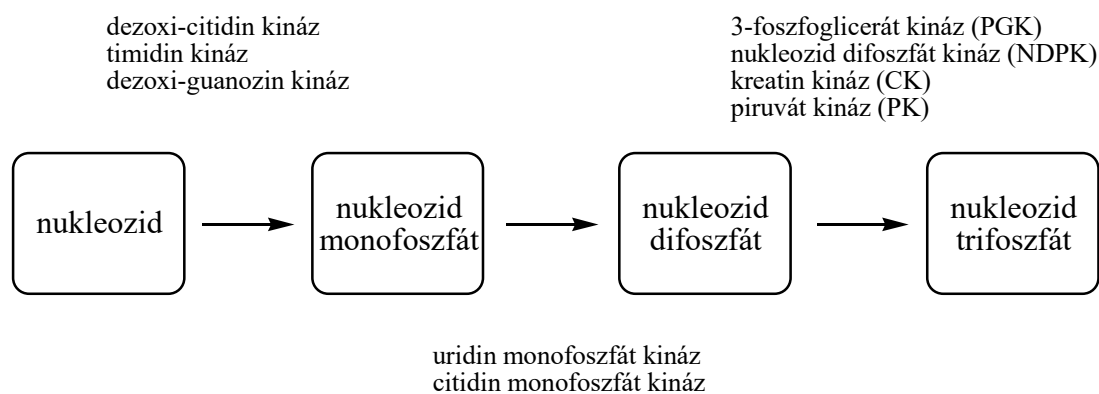


13. ábra A tervezett bázis és cukorrész módosítások új L-nukleozidok előállítására.

Az *N*-glikozil kötés a *D-arabino*-nukleozidok szerkezetében jóval ellenállóbb a nukleozidázok hasításra, mint a 2'-dezoxi analógoknál.¹⁹⁰ Az irodalomban szintén ismert, hogy az 5-halogén¹¹²- és 5-(5-halogentien-2-il)¹⁹¹-uracil-*D*-arabinofuranozidok a HSV-1, VZV és VSV vírustörzseken hasonló antivirális aktivitást mutattak, mint a megfelelő 2'-

dezoxi származékok. A módosítatlan tienil-származékok dokumentáltan kisebb antivirális hatással rendelkeztek az említett vírustörzsek ellen.¹²⁹ Számos esetben azonban a biológiai hatás egyértelműen a módosított cukorrészhez köthető.^{49,50,192}

A munkánk egyik kísérleti célja ennek megfelelően 5-halogén, 5-tienil és 5-(5-halogentien-2-il)-*ara*-L-uridineket és a megfelelő citidin származékaikat tartalmazó vegyületkönyvtár előállítása. További kísérleti célkitűzés egy olyan vegyületkönyvtár létrehozása volt, amely a 2' szénatomon különböző szubsztituensekkel (halogén, azid) módosított ribo konfigurációjú 2'-dezoxi-2'-(halogén- illetve azid-)-L-uridinek és ezek 5-jód illetve 5-tienil származékait tartalmazza. A cél annak tanulmányozása, hogy az esetleg megjelenő cititoxicitás illetve antivirális hatás milyen mértékben köthető a bázisrész illetve a cukorrész módosításához. A szóban forgó új analógok citotoxicitásának tesztelését egér leukémia L1210, Hel, HeLa, Vero, MDCK sejtvonalon, míg az antivirális hatást a herpes simplex-1 (KOS), herpes simplex-1 (TK⁻ KOS ACV^r), herpes simplex-2 (G), vaccinia vírus, vesicular stomatitis vírus, coxsackie vírus B4, respiratory syncytal vírus, parainfluenza-3 vírus, reovírus-1, sindbis vírus, punta toro, influenza A H1N1 altípus (A/PR/8), influenza A H3N2 altípus (A/HK/7/87), influenza B (B/HK/5/72) törzseken terveztük vizsgálni. Ezek a biológiai hatásvizsgálatok vélhetőleg újabb szerkezet-hatás összefüggések felismerését teszi lehetővé.



14. ábra Nukleozid kinázok által katalizált foszforilezési folyamatok.

MTA SZBK Enzimológiai Intézetvel való kooperációs munka keretében a PGK-katalizált enzimreakciók vizsgálatához modellvegyületeket, L-adenozin- és L-citidin-5'-difoszfátot terveztünk előállítani. A sejtben lejátszódó foszforilezés első két lépését már részletesebben ismerjük.¹⁹³ A monofoszfátok előállításáért a dezoxi-citidin kináz,^{194,195,196} timidin kináz¹⁹⁷ vagy pedig a deoxiguanozin kináz¹⁹⁸ felelős, a difoszfátok előállítását pedig az uridin vagy citidin monofoszfát kináz^{199,200} katalizálja (14. ábra).

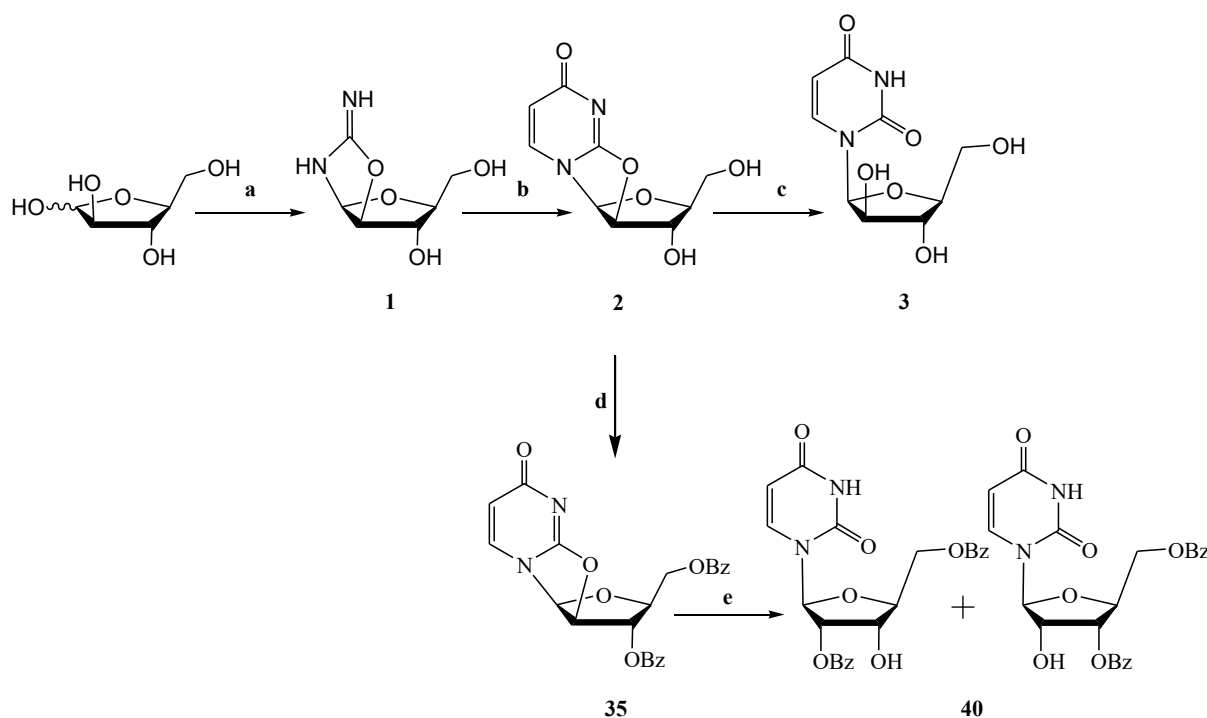
A nukleozid trifoszfátok sejtbeli képződése a megfelelő difoszfátokból egy kritikus folyamat. Ezt a lépést katalizálja többek között a PGK, a nukleozid difoszfát kináz (NDPK), kreati kináz (CK) és a piruvát kináz (PK). Tekintettel arra, hogy a legtöbb HIV-ellenes analóg 3'-deoxi származék, szeretnénk volna tanulmányozni, hogy a fent említett négy kináz közül melyik felelős ezen származékok foszforilezésében. A nukleozid difoszfát kináz vélhetően nem vesz részt a 3'-deoxi származékok foszforilezésében, mivel a ribóz 3'-hidroxil csoportjának megléte nélkülözhetetlen a NDPK aktivitásához.²⁰¹ A maradék három enzim közül a PGK enzimről már leírták, hogy L-nukleozidokat is foszforilál.^{202,203} Ezért kísérletet tettünk arra, hogy meghatározzuk ennek az enzimnek a nukleotid specificitásának szerkezeti alapjait. Elsőként az enzimek purin vagy pirimidin származék specificitását szeretnénk volna tanulmányozni. További célunk annak megállapítása volt, hogy melyik enzim milyen mértékben tolerálja a nem természetes konformációjú L-nukleozidokat és mi lehet ennek a szerkezeti oka. Mivel ezen enzimekről még nem közöltek összehasonlító tanulmányt, így a vizsgálatok eredményétől számos újdonságot reméltünk.

4. Kísérleti eredmények és értékelésük

4.1 Bázis módosított *ara*-L-nukleozidok előállítása

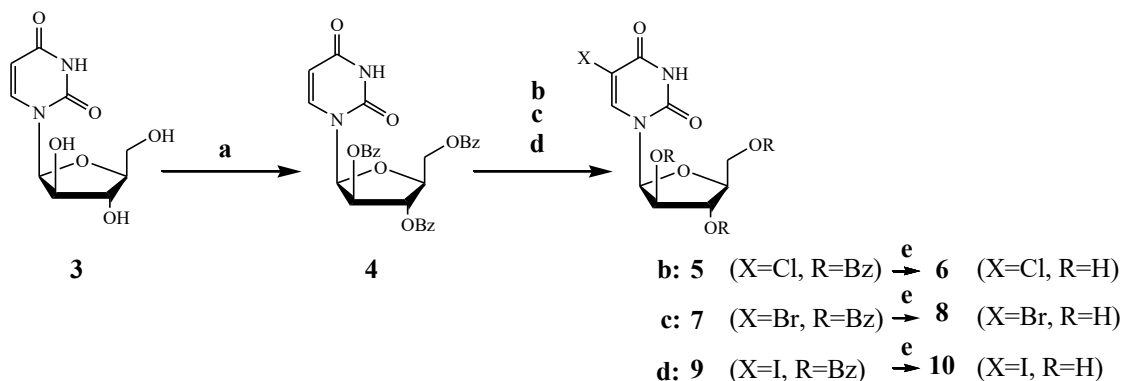
4.1.1 5-Halogén-*ara*-L-uridinek előállítása

Az *ara*- és *ribo*-konfigurációjú L-uridinek előállítását a Holy és munkatársai⁶⁶ által kidolgozott módszer módosításával végeztük (15. ábra). Az L-arabinóz és a ciánamid ammóniás metanolos oldatát, szobahőmérsékleten kevertetve képződött a 2-amino-β-L-arabinofurano-[1',2':4,5]-oxazolin (**1**) az irodalomban leírt hozamhoz (69 %) képest kisebb hozammal (61%). A bepárolt anyalúg oszlopkromatográfiás tisztításával 81% bruttó hozam érhető el. A 2,2'-anhidro-uridin (**2**) előállítása során ha az irodalomban leírt 2.2 moláris ekvivalens helyett 1.26 moláris ekvivalens metil-propiolát alkalmazásával szintén reprodukálható a közölt hozam (65%). A reagens felesleg alkalmazása viszont nem növelte a hozamot. A nyers termék izolálása során a reakcióelegy bepárlásával kapott maradékot etanollal triturálva a termék jó hozammal (63%) szűrővel izolálható.



15. ábra Az *ara*- és *ribo*-konfigurációjú L-nukleozidok előállítása L-arabinózból. **a)** MeOH, ccNH_4OH , ciánamid, 25 °C, 3 nap; **b)** (etanol:víz, 1:1), metil-propiolát, reflux 5 óra; **c)** víz, etanol, NaOH, 25 °C, 1 óra; **d)** Bz-Cl, piridin, 10 °C, 16 óra; **e)** absz. MeOH, BF_3 -éterát, reflux, 2 óra.

A **2** származék kulcsintermedier a szintézis során, mert kiindulási anyaga mind az *ara*-konfigurációjú mind a különböző cukorrész módosított *ribo*-konfigurációjú származékoknak is. Az *ara*-L-uridin (**3**) a **2** anhidro-származék anhidro gyűrűjének lágúgos felnyitásával állítható elő. Az *ara*-L-uridin további módosításai mint például a halogénezés és a Stille kapcsolás védőcsoport nélküli formában is végrehajthatók^{112,96} azonban az összehasonlító vizsgálatok⁹⁸ és korábbi saját tapasztalatok alapján inkább az acil csoporttal védett nukleozidokat használtuk kiindulási anyagként a szintézisek során.^{99,204} A benzoil védett származékok használatának előnyei, hogy a reakciótermékek szilikagél oszlopkromatográfiás tisztításával a szervesen szennyezők könnyen eltávolíthatók és a benzoil védett intermedierek stabilabbak az uridin-citidin átalakítás során, mint az acetil védőcsoportot tartalmazók. A **3** benzoilezésével nyert 2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (**4**) használható a halogénezett származékok (**6**, **8**, **10**) előállítására (16. ábra). Az 5-halogén módosított uridinek előállítására számos irodalmi módszer alkalmazható. Ezek közül a cerium(IV)ammónium-nitrátot és a lítium-halogenideket használó módszert alkalmaztuk.⁹⁹ Lítium-kloriddal acetonitril-ecetsav elegyében 80 °C-on 8 óra után 87 % hozammal nyertük a védett 5-klór-származékot (**5**). Hasonló körülmények között lítium-bromiddal szintén kiváló (88 %) hozammal jutottunk az 5-bróm-származékhoz (**7**).



16. ábra 5-(Klór-, bróm-, jód-)-*ara*-L-uridinek előállítása. **a**) BzCl, piridin, 10 °C, 16 óra; **b**) LiCl, CAN, (CH₃CN:AcOH, 1:1), 80 °C, 8 óra; **c**) LiBr, CAN, (CH₃CN:AcOH, 3:1), 80 °C, 8 óra; **d**) NIS, TFA, DCE, 60 °C, 3 óra; **e**) NaOMe/MeOH, 4 óra.

Mivel az acil védőcsoporttal védett 5-jód-uridin (**9**) fontos intermedier a Stille kapcsolás során, ezért több irodalomban leírt jódozási módszert is vizsgáltunk a reprodukálhatóságra és a méretnövelésre való tekintettel. Az elemi jódval történő halogénezéshez, sztöchiometrikus mennyiségű, meglehetősen drága ezüst-trifluoracetát szükséges.¹¹⁹ Ezzel a reagenssel az irodalomban leírt kiváló hozam (93%) helyett azonban lényegesen rosszabb hozammal (60%) nyertük az 5-jód származékot (**9**). Az Ag₂SO₄ katalizátor használatával 10 perc alatt majdnem

kvantitatív reakció játszódott le. A probléma a reakció reprodukálhatósága volt mivel a jódozás hozama nagymértékben függött az ezüst-szulfát katalizátor állapotától. A katalizátor állás közben jelentősen veszített az aktivitásából és számos esetben nem képződött a kívánt 5-jód vegyület (**9**). A jódozás mellett az oldószernek használt metanol a C5 és a C6 szénatomok közötti kettős kötésre történő addíciója is lejátszódott (^1H NMR spektrumban megjelent a metil csoport jele (3.29 ppm)). Ilyen jellegű addíciót már mások is leírtak.²⁰⁵ Ezek után egy új jódozási módszert dolgoztunk ki. Az *N*-jódzucchinimidet (NIS) használva halogénforrásnak 5% trifluorecetsavat tartalmazó diklórmétánban a jódbevitel 60 °C-on 20-30 perc alatt közel kvantitatív hozammal (97%) szolgáltatta a kívánt terméket. A módszer előnye, hogy uridin és citidin származékokra egyaránt alkalmazható, gyors, megbízható és melléktermék képződés nem tapasztalható. A hátránya azonban az, hogy csak védett származékok esetében használható. Az 5-jód-*ara*-L-uridin származék (**9**) e módszerrel majdnem kvantitatív hozammal nyerhető.

Az előzőekben előállított benzoil-védett 5-halogén-uridinek (**5**, **7**, **9**) Zemplén-féle debenzoilezés kiváló hozammal (81-89 %) nyerhető a két új, (**6**, **8**) és az irodalomban már leírt **10** származék. Annak ellenére, hogy a 5-jód-*ara*-L-uridint már korábban előállították, biológiai hatását azonban nem vizsgálták mert kizárólag intermediereként használták.¹²⁰ Az 5-fluor származékot nem terveztük előállítani, mivel már korábban előállították és *in vitro* aktivitását három különböző sejtvonalon vizsgálták.²⁰⁶ Azonban egyik sejtvonalon sem mutatott hatást, valószínűleg a biológiai hatásért felelős 5-fluouracil felszabadulás hiánya miatt.

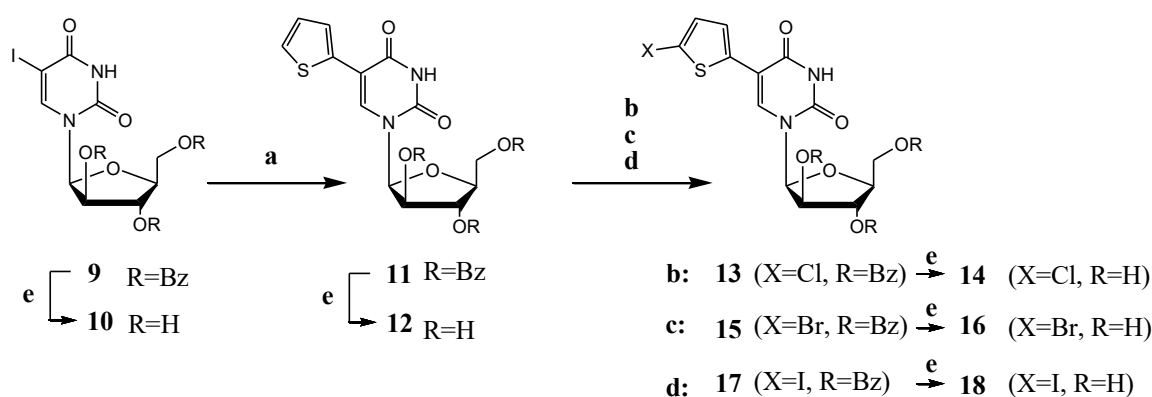
4.1.2 Az 5-tienil- és 5-(5-halotien-2-il)-*ara*-L-uridinek előállítása

A fenti származékokat a védett 5-jód-*ara*-L-uridinból kiindulva Stille keresztkapcsolási reakcióban terveztük előállítani (17. ábra). Az irodalomban leírt módszerek közül két keresztkapcsolási módszert próbáltunk ki. Az egyik esetben 2',3',5'-tri-O-benzoil-5-jód-*ara*-L-uridinból kiindulva *N,N*-dimetilformamidban $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ katalizátort, míg a másik esetben dioxánban $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ katalizátort használtunk.¹²⁹ A DMF oldószerben végzett reakció adta a nagyobb hozamot, ezért ezt a módszert választottuk a tervezett 5-tienil származékok előállítására.

A keresztkapcsolási reakciókban 5-bróm és 5-jód származékok is használhatók. A bróm származékok stabilabbak és a lassúbb reakciójuk miatt általában alacsonyabb hozamokat

szolgáltatnak. Az 5-jód származékok ezzel szemben hőre, fényre érzékenyebbek, viszont reaktívabbak. Az 5-tienil vegyületek előállítására a nagyobb hozam elérése érdekében ezért az 5-jód származékból (9) indultunk ki *N,N*-dimetilformamidban végezve a reakciót. A reakciókörülmények optimalizálása után a keresztkapcsolást 95°C-on végeztük tributil-ón-2-tiofénnel Pd(PPh₃)₄ katalizátor jelenlétében. A kapcsolás az irodalomban¹²⁹ közölt értékhez (33%) képest közel kétszer akkora hozammal (64%) eredményezte a védett 5-tienil nukleozidot (11). A különbség valószínűleg a benzoil védőcsoport használatából adódott az irodalomban leírt acetil védőcsoporttal végzett reakcióhoz képest. Megjegyzendő, hogy az irodalmi módszerben toluol oldószert használtak. A debenzoilezés után jó hozammal (86%) izoláltuk az 5-(thien-2-il)-*ara*-L-uridint (12).

A védett 5-(5-halotien-2-il)-*ara*-L-uridineket (13, 15, 17) a 11 származékból kiindulva halogéneztek kiváló hozamokkal (90-97%). A klórozáshoz N-klór-szukcinimidet használtunk piridinben, a brómozáshoz elemi brómot széntetraklorid és diklórmetán elegyében, a jódozáshoz pedig N-jód-szukcinimidet trifluorecetsavat tartalmazó diklórmetánban. Érdeemes megjegyezni, hogy míg a 14 és a 16 D-enantiomerjét már korábban előállították és vizsgálták,¹⁹¹ addig az 5-(5-iod-tien-2-il)-*ara*-D-uridin-t még nem írták le, holott a vele rokon 2'-dezoxi vegyület már ismert.¹⁹¹



17. ábra 5-Tienil- és 5-(5-(klór-, bróm-, jód-)-tien-2-il)-*ara*-L-uridinek előállítása.

a) 2-tributylsztannil-tiofén, Pd(PPh₃)₄, DMF, 95 °C, 4 óra; **b)** NCS, piridin, 100 °C, 5 óra; **c)** Br₂, CCl₄, DCM, 0°C, 15 perc; **d)** NIS, TFA, DCE, 60°C, 2 óra; **e)** NaOMe/MeOH, 4 óra.

A védett 13, 15, 17 származékokról Zemplén-féle dezacilezéssel állítottuk elő az eddig nem leírt klór-, bróm- és jódtienil nukleozidokat (14, 16, 18). A védőcsoport-eltávolítás után minden esetben oszlopkromatográfiásan tisztítottuk a nukleozidokat. A végső izolált

hozamokat figyelembe véve feltűnő, hogy a **14** és **16** származék esetében kapott hozamok (79-89%) jóval magasabbak a **18** származék esetén elért hozamnál (50%).

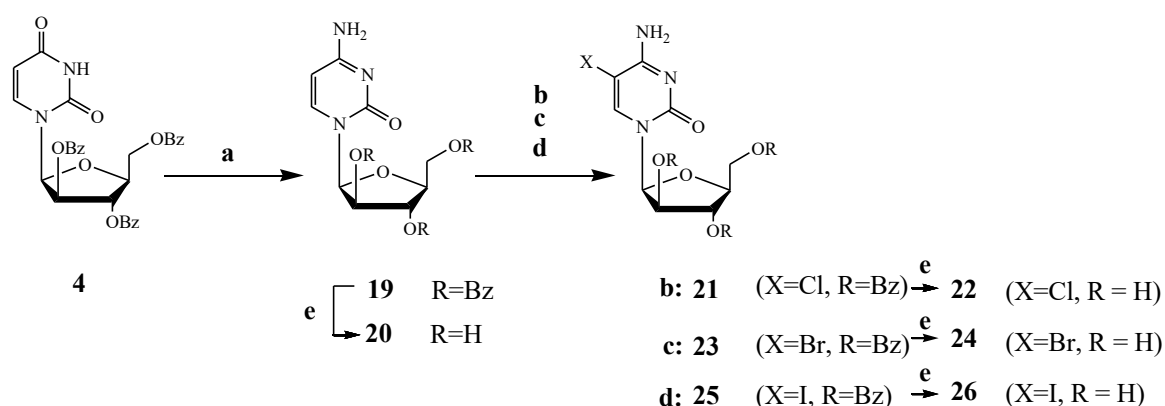
4.1.3 Az *ara*-L-citidin származékok előállítása *ara*-L-uridin származékokból

Az *ara*-L-citidin származékokat a megfelelő *ara*-L-uridin származékokból tervetül előállítani. (18. és 19. ábra) irodalomban leírt módszerek közül triazolil-intermedieren (4-(1,2,4-triazol-1-il)-*ara*-L-uridin és 4-(1,2,4-triazol-1-il)-5-(tien-2-il)-*ara*-L-uridin) keresztül történő átalakítás ígérte a legnagyobb hozamot, ezért e módszert használtuk az uridin származékok (**4**, **11**) citidin származékokká (**19**, **27**) történő átalakítására. A reakció mechanizmusa szerint piridinben a foszforoxikloriddal először egy reaktív foszforoxi-triazolilszármazék keletkezik a bázis rész enol formájából, amely reagál a védett uridinnel 4-triazolil származékot eredményezve. Az így előállított 4-(1,2,4-triazol-1-il) származék származék nukleofilekre nagyon érzékeny, ezért a reakcióelegy feldolgozása során ügyelni kell, hogy csak a minimális mennyiségű jéghideg, semleges pH-jú desztillált vízzel mossuk, és azonnal fel is használjuk. A 4-(1,2,4-triazol-1-il) származékot ezután dioxánban oldva tömény ammóniaoldattal ammonolizálva nyertük a **19** származékot 70 % hozammal. Ugyanez a reakció acetil védett *ara*-L-uridinből kiindulva csak 42% hozammal volt szolgáltatva a terméket.²⁰⁷ Fontos megjegyezni azonban azt is, hogy ebben az esetben nem csak a triazolil származék ammonolízise, hanem a védőcsoport eltávolítása is lejátszódik, így a hozam két reakciólépés hozamát jelenti. A stabilabb benzoil védőcsoporttal végzett szintézisek során, alacsonyabb hőmérsékleten rövidebb reakcióidőt alkalmazva a debenzoileződés 10% alatt maradt és így 70% hozammal tudtuk izolálni a **19** vegyületet. A **19** származék kiindulási anyagként használható az 5-halogén származékok előállítására. A **19** származékból a védőcsoportok eltávolításával 86 % hozammal *ara*-L-citidinhez **20** jutottunk, amely a korábbi vizsgálatok²⁰⁷ alapján inaktívnak bizonyult anti-HIV, anti HSV és anti-tumor tesztek során.

4.1.4 Az 5-halogén-*ara*-L-citidinek előállítása

Az előzőekben előállított **19** vegyület kiindulási anyagként szolgált az 5-halogén-*ara*-L-citidin származékok előállítására (18. ábra). A citidinek 5-halogén módosítására számos irodalmi lehetőség kínálkozik. Legegyszerűbbnek az *N*-haloszukcinimidekkel történő halogénezési reakciók tűntek. Ezek kiváló hozammal szolgáltatják az 5-halo-citidineket, ezért

az uridineknél használt cerium(IV)-ammónium-nitrátot használó módszert nem érdemes alkalmazni. Feltételezhetően ez utóbbi eljárás csak akkor alkalmazható, ha az amino csoport is védve van. A **19** származékból kiindulva piridinben, 100°C-on, N-klórszukcinimiddel állítottunk elő a **21** származékot kiváló hozammal (94%). Ugyancsak a **19** származékból kiindulva elemi brómmal széntetraklorid és diklórmétán elegyében. A reakció 0°C-on brómozva 82% hozammal állítható elő a **23** származék. A jódszármazék előállítása során a **19** vegyületet piridinben N-jódszukcinimiddel kíséreltük meg jódozni azonban a reakció meglepetésre nem eredményezte a várt **25** származékot. A piridin helyett az uridineknél alkalmazott DCM-TFA oldószerkeletet alkalmazva viszont jó hozammal (77%) keletkezett a **25** származék. A hozamok alakulásából is látszik, hogy a legstabilabb klór származék képződött a legnagyobb hozammal, míg a legkevésbé stabil jódszármazék a legkisebb hozammal.

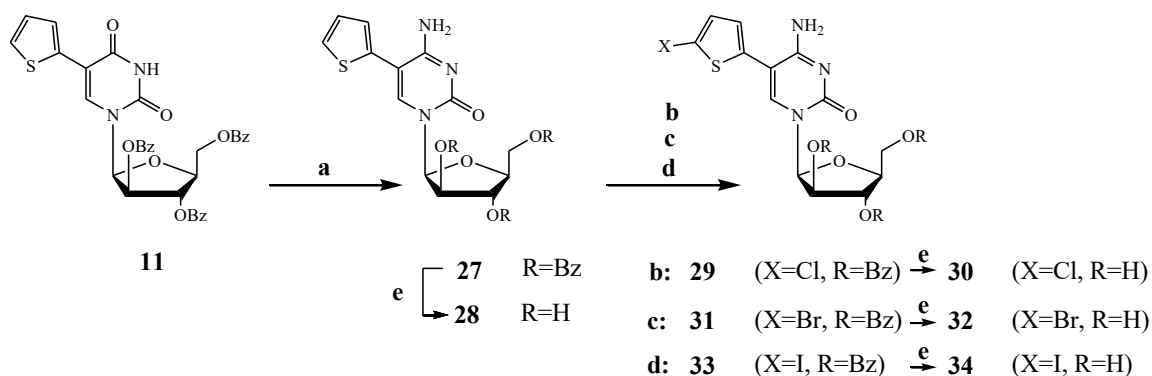


18. ábra 5-(Klór-, bróm-, jód-)-ara-L-citidinek előállítása. **a)** i. 1,2,4-triazol, POCl₃, piridin, 0 °C, 16 óra; ii.) ccNH₄OH, dioxán, 25 °C, 8 óra; **b)** NCS, piridin, 100 °C, 5 óra; **c)** Br₂, CCl₄, DCM, 0 °C, 15 perc; **d)** NIS, TFA, DCE, 60°C, 2 óra; **e)** NaOMe/MeOH, 4 óra.

A benzoilezett 5-klór-, 5-bróm- és 5-jód-ara-L- ara-L-citidineket (**21**, **23** és **25**) jó hozamokkal (77-94%) a **19** származék és a megfelelő N-halo-szukcinimidet reakciójában állítottuk elő. A debenzoilezéssel a megfelelő 3 új 5-halo-nukleozidokhoz (**22**, **24** és **26**) jutottunk. A megfelelő D-antipódokat 5-klór-,²⁰⁸ 5-bróm-¹⁰¹ és 5-jód-ara-D-citidint²⁰⁹ már korábban előállították azonban, a brómozást kivéve a hozamok minden esetben rosszabbak voltak.

4.1.5 Az 5-tienil- és az 5-(5-(halotien-2-il)-*ara*-L-citidinek előállítása

A védett 5-(tien-2-il)-*ara*-L-citidint (**27**, 57%) a **11** molekulából kiindulva szintetizáltuk a **19** előállítása során (az előző fejezetben) ismertetett módon (19. ábra). Meg kell azonban jegyezni, hogy ebben az esetben, feltehetően a szomszédos tienil csoport térigénye miatt a 4-triazolil származék képződése több időt igényelt (18 óra), mint a tienil-szubsztituenst nem tartalmazó vegyületek esetén (8 óra). Ugyanakkor viszont az ammonolízis sokkal gyorsabban játszódott le (8 óra helyett 4 óra alatt). Ebben az esetben sem tapasztaltunk említésre méltó debenzoileződést. A **27** védőcsoport eltávolításával jó hozammal (81%) a **28** származékhoz jutottunk. A **27** vegyületet kiindulási anyagként használtuk a védett 5-(5-(klór-, bróm-, jód)-tien-2-il)-*ara*-L-citidinek (**29**, 81%; **31**, 91% és **33**, 61%) előállításához. A klórozást és a jódozást a megfelelő *N*-halo-szukcinimidek alkalmazásával, míg a brómozást elemi brómmal valósítottuk meg. A védőcsoportok eltávolítása után három új nukleozidot (**30**, 79%; **32**, 78% és **34**, 39%) izoláltunk. A tienil csoport halogénezésének a helyét (5'') az 5-(2-tienil)-*ara*-uridin származékokhoz hasonlóan¹⁹¹ az NMR spektrumok alapján azonosítottuk.



19. ábra 5-Tienil- és 5-(5-(klór-, bróm-, jód)-tien-2-il)-*ara*-L-citidinek előállítása. **a)** *i*. 1,2,4-triazol, POCl₃, piridin, 0 °C, 16 óra; *ii*. cc NH₄OH, dioxán, 25 °C, 8 óra; **b)** NCS, piridin, 70°C, 2 óra; **c)** NBS, piridin, 50 °C, 4 óra; **d)** NIS, DCE, TFA, 60 °C, 1 óra; **e)** NaOMe/MeOH, 25 °C, 4 óra.

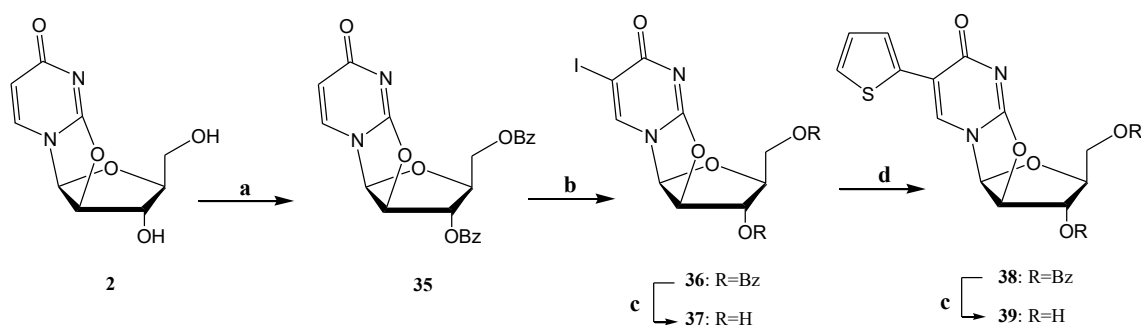
A citidin származékok előállítása során a védőcsoport eltávolításakor a pH beállítására használt ioncserélő gyanta (DOWEX50×2 [H⁺]) jelentős mennyiségű terméket kötött meg, ezért a korábbi kísérleteink alapján²⁰⁴ tömény ammónia-oldattal történő mosással tudtuk csak teljesen eluálni a citidin származékokat. Az uridin származékokkal ellentétben az általunk előállított **28**, **30**, **32** és **34** származékok és a D-antipódjaik is ismeretlenek az irodalomban. A biológiai vizsgálatokhoz az anyagokat dimetilszulfidban oldják a vizsgálatokat végző

partnereink, ezért szükség volt a vegyületek oldhatóságának meghatározása (melléklet 1. táblázat). A vegyületek oldhatósága 200 mg/ml DMSO nagyságrendű volt.

4.2 Cukor- és bázismódosított L-uridinek előállítása

4.2.1 Bázismódosított 2,2'-anhidro-L-uridinek előállítása

A bázismódosított 2,2'-anhidro-L-uridinek előállítása a 20. ábra szerinti reakcióséma alapján történt. A **35** származékból kiindulva *N*-jód-szukcinimiddal DCM-TFA elegyben 78 % hozammal sikerült előállítani a **36** származékot, melyből Stille keresztkapcsolásos reakcióval *N,N*-dimetilformamidban $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ katalizátort használva a **38** származékhoz jutottunk jó hozammal (61%). A **36** és **38** származékokból kiindulva a védőcsoport eltávolítása után két új nukleozidot **37** (64%) és **39** (88%) kaptunk. A **37** származék előállítása során ha nem katalitikus mennyiségű nátrium-metoxidot, hanem a reakció gyorsítása miatt 1-2 ekvivalens mennyiséget alkalmazunk, az anhidro gyűrű is felnyílik és a **10** származék képződik.

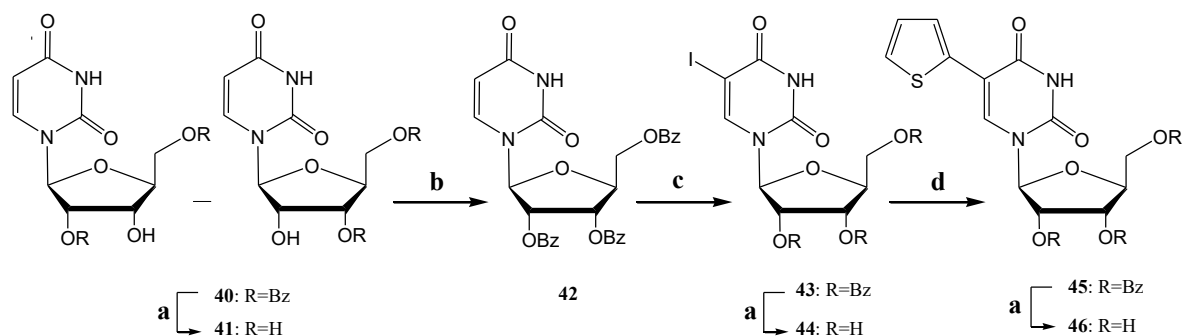


20. ábra 5-Jód- és 5-tienil-anhidro-L-uridinek előállítás. **a)** BzCl , piridin, 10°C , 16 óra; **b)** NIS , TFA , DCE , 60°C , 3 óra; **c)** NaOMe/MeOH , 4 óra; **d)** 2-tributylstannil-tiofén, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, DMF , 95°C , 4 óra.

Érdekes, de nem meglepő módon mikor a védett 5-jód-2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridin keresztkapcsolási reakcióját *N,N*-dimetilformamidban végeztük, azt tapasztaltuk, hogy kezdetben két termék keletkezik és az idő előrehaladtával az egyik termék eltűnik. A szerkezetigazolás során kiderült, hogy először a várt termék (**72**) keletkezett majd melegítés hatására a 2-helyzetű karbonil csoport nukleofil támadásával kialakult az anhidro gyűrűt tartalmazó **36** származék is.

4.2.2 Bázismódosított L-uridinek előállítása

A bázismódosított L-uridineket a 21. ábrán bemutatott reakcióséma alapján állítottuk elő. A **35** anhidro-vegyületből kiindulva ribo konfigurációjú L-uridin (**41**, 77%) is előállítható Lewis sav ($\text{BF}_3 \cdot \text{éterát}$) katalizált izomerizációt követő debenzoilezéssel. A reakció mechanizmusa szerint a Lewis sav a N^3 atomhoz koordinálódva lazítja az anhidro gyűrű kötését a cukor részhez ezáltal a 3' hidroxil csoporton lévő benzoil karbonil csoportja nukleofil támadásával a benzoil csoport a 2' és a 3' szénatom között delokalizálódik, majd a vizes feldolgozás során vagy a 2' vagy pedig a 3' szénatomra kerül, így 2',5'- illetve a 3',5'-di-*O*-benzoil származékokhoz jutunk. Az izomer elegyet benzoilezve 1,1 ekvivalens benzoil-kloriddal a 2',3',5'-tri-*O*-benzoil-L-uridint (**42**, 81%) kapjuk.⁶⁷



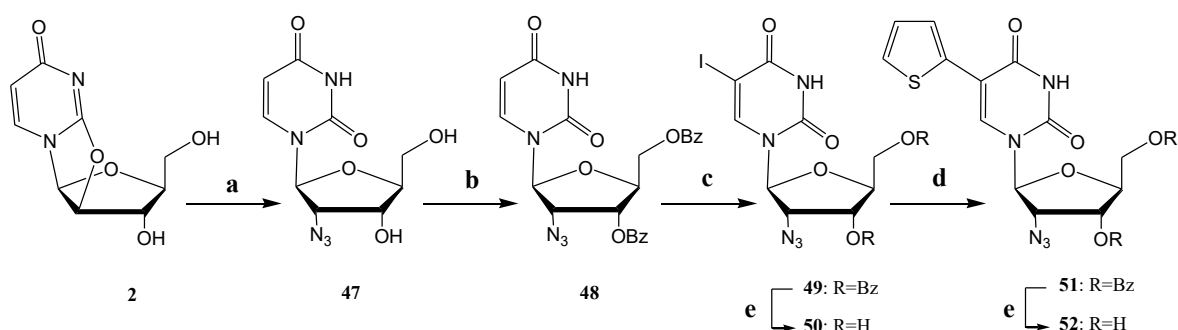
21. ábra Az L-uridin valamint 5-jód- és 5-tienil-L-uridinek előállítása. **a)** NaOMe/MeOH, 4 óra; **b)** BzCl, piridin, 10 °C, 16 óra; **c)** NIS, TFA, DCE, 60 °C, 3 óra; **d)** 2-tributylsztanil-tiofén, Pd(PPh₃)₄, DMF, 95 °C, 4 óra.

A **40** vegyületekből kiindulva DCM-TFA oldószerkelegben, *N*-jód-szukcinimiddal nyerhető a **43** származék kiváló hozammal (96%). Az 5-tienil származékot a korábban már ismertetett módon állítottuk elő (előző fejezet 4.2.1) 75 % hozammal. Az előállított védett **40**, **43**, **45** ribo-nukleozidokból a benzoil védőcsoport Zemplén debenzoilezéssel nyerhető az új **46** nukleozid (87%) és két, már korábban leírt **41**, **44** nukleozid 77-89% közötti hozamokkal.

4.2.3 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridinek előállítása

A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridinek előállítását a **2** anhidro származékból a 22. ábrán feltüntetett reakcióséma szerint végeztük. Az anhidro gyűrű felnyitását azid nukleofillel

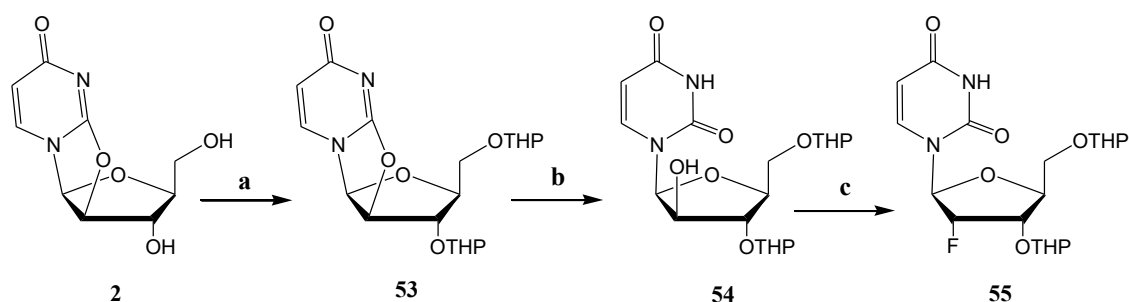
DMF és HMPA oldószerekben tanulmányoztuk. A HMPA alkalmazása esetében nem tudtunk kristályos termékhez jutni, ezért inkább *N,N*-dimetilformamidot használtunk. Lítium-aziddal végezve a reakciót a **47** származékot 41% hozammal izoláltuk. A termék nagyon higroszkópos és levegőn állva két nap alatt teljesen elfolyósodik. A szabad hidroxil csoportokat benzoil védőcsoporttal védve kaptuk meg a **48** származékot (70%). Az 5-jód származékot (**49**, 95%) *N*-jódszukcinimides jódozással nyertük, amelyből Stille kapcsolással az **51** tienil-származékhoz jutottunk (54 %). Az 5-jód- és 5-tienil-2'-dezoxi-2'-azido-3',5'-di-O-benzoil-L-uridin Zemplén-féle debenzoilezésével nyertük az új 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridineket (**50**, **52**) vegyületet jó hozammal (78%).



22. ábra A 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridin, 5-jód- valamint 5-tienil- származékok előállítása
a) LiN_3 , DMF 155°C , 6 óra; **b)** BzCl , piridin, 10°C , 16 óra; **c)** NIS, TFA, DCE, 60°C , 3 óra;
d) 2-tributylstannil-tiofén, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, DMF, 95°C , 4 óra; **e)** NaOMe/MeOH, 4 óra.

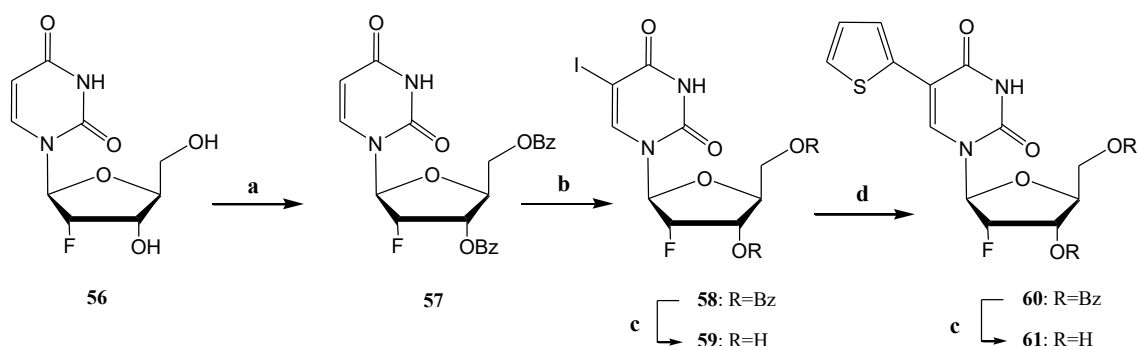
4.2.4 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridinek előállítása

A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridinek előállítását a **2** anhidro származékból kiindulva a 23. és 24. ábrán bemutatott reakcióséma szerint terveztük. Kezdetben az acil (acetyl, benzoil) védett intermediereken keresztül kíséreltük meg előállítani az **56** származékot. A reakció DAST reagenssel azonban mind acetyl, mind benzoil védett származékok esetén 2'-3' epoxidokat eredményezett. Ezután az irodalomban^{157,159} leírt módon kíséreltük meg a 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridin előállítását.



23. ábra A 2'-dezoxi-2'-fluor-3',5'-di-tetrahidropiranyl-L-uridin előállítása. **a)** *p*-TsOH, DMF, DHP, 0°C, 2 óra, majd 25°C, 16 óra, TEA; **b)** MeOH-víz, NaOH, 25°C, 2 óra; **c)** DCE-piridin, -70°C, DAST, majd 40°C, 4 óra.

A **2** anhidro-származékból hidroxil csoportokat tetrahidropiranyl éterként védtek (87%), majd az **53** anhidro vegyület anhidro gyűrűjének felnyitását NaOH vizes oldatával végeztük (96%). Az így nyert **54** származékot 1,2-diklóretán és piridin elegyében fluoroztuk DAST fluorozó szerrel. A képződött 2'-dezoxi-2'-fluor vegyület (**55**, 71%) sav-érzékeny tetrahidropiranyl védőcsoportjainak *p*-toluol-szulfonsavval végzett eltávolítása után keletkező **56** (84%) dihidroxil származék benzoil-kloridos benzoilezésével nyertük a 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridin származékot (**57**, 89%).

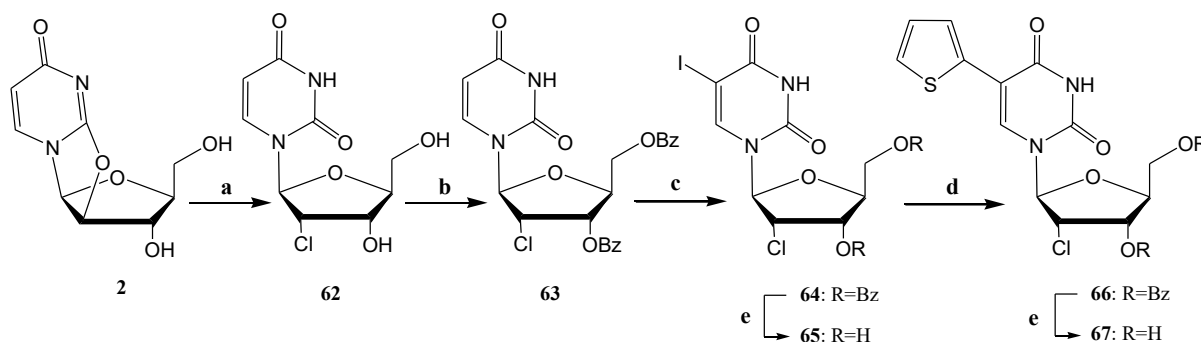


24. ábra Az 5-jód- valamint az 5-tienil-2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridin származékok előállítása. **a)** BzCl, piridin, 10 °C, 16 óra; **b)** NIS, TFA, DCE, 60 °C, 3 óra; **c)** NaOMe/MeOH, 4 óra; **d)** 2-tributylsztannil-tiofén, Pd(PPh₃)₄, DMF, 95 °C, 4 óra.

A védőcsoport csere bruttó hozama 75 % volt. Az **58** jódszármazék előállítása *N*-jódszukcinimiddal végzett jódozással történt DCE-TFA oldószerkeletben (95%). A **60** tienil-származékot az **58** és a tri-*n*-butylsztannil-tiofén Stille kapcsolásával állítottuk elő (91%). Az **58** és a **60** vegyületekből a védőcsoport eltávolítása után nyertük a **61** (89%) új és az **59** (88%) egy már korábban leírt L-nukleozidot.

4.2.5 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridinek előállítása

A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridineket a 25. ábra alapján állítottuk elő a **2** anhidro-származékból az irodalomban¹⁴⁰ leírt módon. A 2-klórszármazék (**62**) előállításához az anhidro vegyületet sósav dioxános oldatával klóroztuk *N,N*-dimetilformamidban (91%) amelyből benzoilezés után jutottunk a **63** benzoil védett származékhoz (98%).



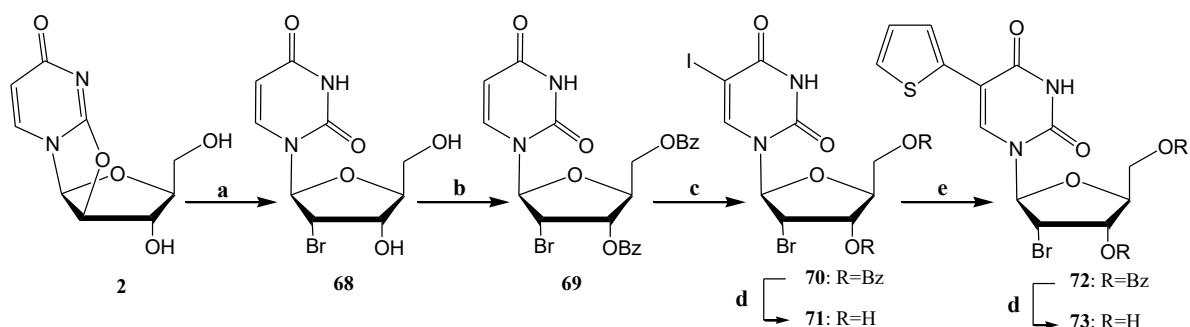
25. ábra A 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridin, és annak 5-jód- valamint 5-tienil-származékainak előállítása. **a)** HCl/DMF 90 °C, óra; **b)** BzCl, piridin, 10 °C, 16 óra; **c)** NIS, TFA, DCE, 60 °C, 3 óra; **d)** NaOMe/MeOH, 4 óra; **e)** 2-tributylstannil-tiofén, Pd(PPh₃)₄, DMF, 95 °C, 4 óra.

A **64** jódszármazék előállítását *N*-jódszukcinimiddal végeztük DCE-TFA oldószerkelegyen (98%). A **66** tienil származékot az **64** és a tri-*n*-butylstannil-tiofén Stille kapcsolásával állítottuk elő (94%). A **64** és **66** származékokból a védőcsoportok eltávolításával, közepes hozammal (67%) nyertük a két új **65** és **67** L-nukleozidot.

4.2.6 Bázismódosított 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridinek előállítása

A tervezett szintézis az előző fejezetekben ismertetett stratégia alapján történt (26. ábra) A 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridinek előállítását a **2** anhidro-vegyületből az irodalomban¹⁶⁶ leírt módon hidrogén-bromiddal lehet megvalósítani. A bómozást először *N,N*-dimetilformamidban szuszpendált **2** származékon 48%-os HBr-vizes oldatával és a HBr ecetsavas oldatával is kipróbáltuk. Mindkét reakció esetén homogén oldat keletkezett, majd 100 °C-on 5 óra kevertetés után fogyott el a kiindulási **2** származék. Vizes HBr oldattal végzett reakció során azonban két termék keletkezett. A várt **68** származék (70%) mellett azonban 30% polárosabb

melléktermék, az *ara*-L-uridin is keletkezett. Ha a hidrogén-bromid ecetsavas oldatával végeztük a reakciót, közel kvantitatív hozammal kaptuk a 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridint (**68**).



26. ábra A 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridin, és annak 5-jód valamint 5-tienil származékainak előállítása. **a)** HBr/AcOH 100 °C, 5 óra; **b)** BzCl , piridin, 10 °C, 16 óra; **c)** NIS , TFA , DCE , 60 °C, 3 óra; **d)** NaOMe/MeOH , 4 óra; **e)** 2-tributylstannil-tiofén, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, DMF , 95 °C, 4 óra.

Következésképpen a többlépéses szintézis során szükséges nagyobb mennyiségű **68** származékot a hidrogén-bromid ecetsavas oldatával állítottuk elő (82%). A **68** vegyület benzoilezésével jutottunk a **69** benzoil védett származékhoz (83%). A **70** jódszármazék előállítását ez esetben is *N*-jódszukcinimiddal végeztük diklórmétán-trifluorecetsav elegyében 80% hozammal. A **72** tienil-származék előállítása során azt tapasztaltuk, hogy a keresztkapcsolás során két termék keletkezik *N,N*-dimetilformamid oldószerben. Az egyik a várt **72** származék, míg a másik a gyűrűzárt 2,2'-anhidro **38** származék. A reakció előrehaladtával az anhidro gyűrűzáródással képződő termék kerül túlsúlyba. Hat óra után a várt termék már csak 30%-ban volt jelen a reakcióelegyben a **38** melléktermék mellett. Az enyhén bázikus *N,N*-dimetilformamid oldószer valószínűleg elősegítheti a gyűrűzáródást. A dioxánban elvégezett reakcióban viszont már túlnyomórészt a várt **72** származék keletkezett (82%). A DMF gyűrűzárásában játszott szerepének tisztázásához a tisztított 5-tienil-2-brómszármazékot (**72**) *N,N*-dimetilformamidban 95 °C-on kevertetve, azt tapasztaltuk, hogy a gyűrűzárással a **38** származék keletkezik. A **70** és a **72** származékokból a védőcsoportok eltávolításával nyertük a két új **71** (81%) és **73** (37%) L-nukleozidot.

A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-(halogén, azid és anhidro)-L-uridinek oldhatóságát dimetilszulfoxidban a melléklet 3. táblázatában tüntettem fel. A vegyületek oldhatósága a

bázismódosított *ara*-L-nukleozidok oldhatóságához hasonló nagyságrendű volt (melléklet 2. táblázat).

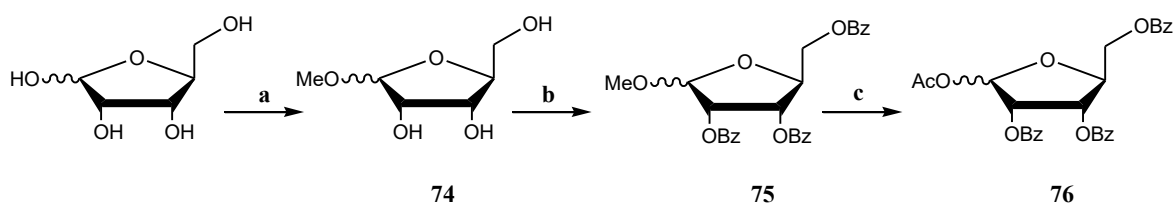
4.3 Az L-nukleozid-5'-difoszfátok előállítása

4.3.1 Az L-nukleozidok szintézise

Az L-nukleozidok előállítására az irodalomi áttekintésben felsorolt módszerek közül a Vorbrüggen kapcsolás tűnt a legcélszerűbb megoldásnak ezért ezt a módszert alkalmaztuk.

4.3.2 Az 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribofuranóz előállítása

Az 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribofuranóz előállítását a 27. ábra szerinti reakcióúton végeztük. Az irodalomban leírt módon²¹⁰ L-arabinózból kiindulva sósavas metanolt alkalmazva a **74** metil-glikozid anomer elegyet sósavas metanolos hemiacetáltképzéssel állítottunk elő.

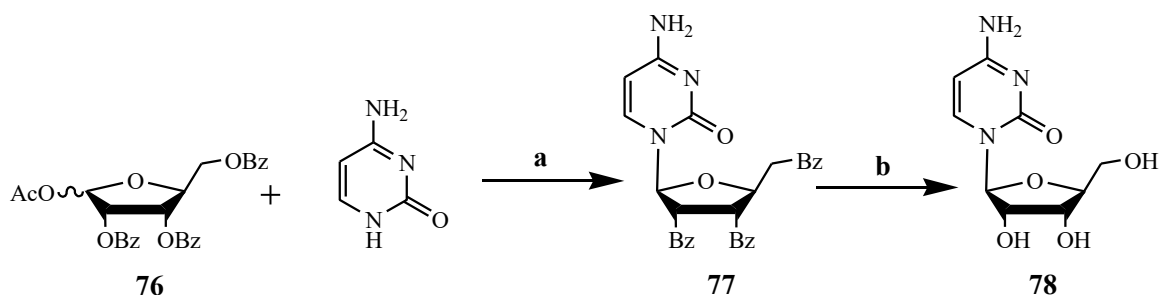


27. ábra Az 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribóz előállítása. **a)** MeOH, MeOH/HCl, 25 °C, 18 óra; **b)** piridin, Bz-Cl, 0 °C, majd 25 °C, 18 óra; **c)** jégecet, Ac₂O, cc H₂SO₄, 0 °C, majd 5-10 °C, 48 óra.

A **74** származék perbenzoilezésével az irodalomban leírt hozamokat reprodukálva nyertük az 1-*O*-metil-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribofuranozidot (**75**). Az 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribóz származékot (**76**) ecetsav anhidriddel kénsav jelenlétében végzett acilezéssel nyertük. A reakció nem volt reprodukálható, mert több esetben jelentős mennyiségű nyíltláncú melléktermék is keletkezett. Ezt a jelenséget már mások is leírták az irodalomban.^{211,212,213}

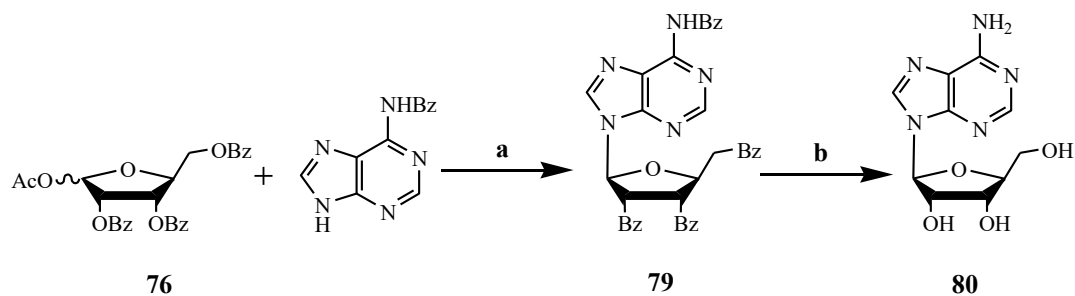
4.3.3 Az L-citidin, L-adenozin és L-uridin előállítása

Az L-nukleozidok szintézisére, több előállítási módszer is található az irodalomban, ezek közül a két legjobb hozamot ígérő módszerrel az acil⁵⁹ védőcsoportot és a trimetil-szilil⁶⁰ védőcsoportot alkalmazó Vorbrüggen kapcsolással előkísérleteket végezve azt tapasztaltuk, hogy az acil védőcsoportot alkalmazó Vorbrüggen kapcsolással jobb hozamokat tudunk elérni, ezért ezt a módszert alkalmaztuk a továbbiakban. A citidin szintézisének menetét a 28. ábra szemlélteti. A citozint *N,O*-bis-(trimetilszilil)-acetamiddal 4-(trimetilszililamino)-2-trimetilszililoxi)-citozinná alakítva reagáltatjuk az 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribóz származékkal (**76**) szénhidrát-származékkal trimetilszilil-triflát katalízis mellett. A **77** nukleozidot az irodalmi⁵⁹ hozamnál (98%) kisebb hozammal nyertük (70 %).



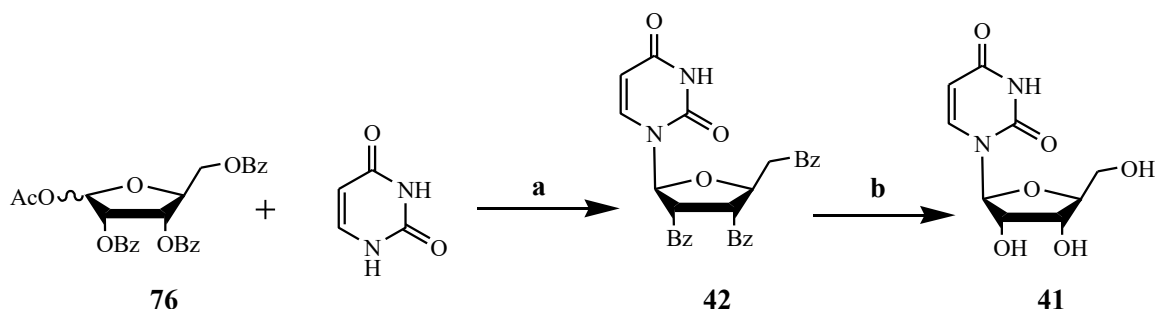
28. ábra Az L-citidin (**78**) szintézise Vorbrüggen kapcsolással. **a)** DCE, BSA, TMSOTf, 6 óra reflux, **b)** NaOMe/MeOH, 25 °C 18óra.

A védőcsoport eltávolítását Zemplén féle dezacilezéssel végezve oszlopkromatográfiás tisztítás után közel kvantitatív hozammal nyertük az L-citidint (**78**). A nukleozid előállítása az adenzin esetében is hasonlóan történt (29. ábra). Az N⁶-benzoil-adenozint *N,O*-bis-(trimetilszilil)-acetamiddal N^{6,9}-bis(trimetilszilil)-N⁶-benzoiladenozinná alakítva reagáltatjuk az 1-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribóz származékkal (**76**) trimetilszilil-trifluormetil-szulfonát katalizátor jelenlétében. Az irodalomban⁵⁹ leírt 95 % hozam helyett azonban a **79** nukleozid csekély (19 %) hozammal keletkezett.



29. ábra Az L-adenozin (**80**) szintézise Vorbrüggen kapcsolással. **a)** DCE, BSA, TMSOTf, 4 óra reflux; **b)** NaOMe/ MeOH, 25 °C 18 óra.

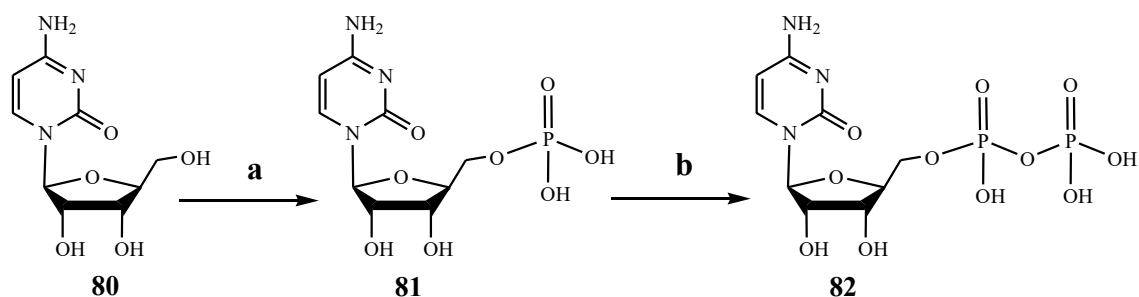
A védőcsoport eltávolítását a Zemplén-féle debenzoilezéssel végezve oszlopkromatográfiás tisztítás után 98% hozammal nyertük az L-adenozint (**80**). Mivel a Vorbrüggen kapcsolat a kezünkben kisebb hozamokat szolgáltatott a módszer ellenőrzése miatt előállítottuk az L-uridint. Az uracilnak az előzőekkel analóg kapcsolása szintén az irodalomban közöltnél (95%) gyengébb hozammal (68%) eredményezte a **42** védett uridint, amelyből az L-uridint (**41**) Zemplén dezacetilezéssel kaptuk (30. ábra).



30. ábra Az L-uridin (**41**) szintézise Vorbrüggen kapcsolással. **a)** DCE, BSA, TMSOTf, 6 óra reflux, **b)** MeOH, NaOMe, 25 °C 18óra.

4.3.4 Az L-citidin- és az L-adenozin-5'-mono és 5'-difoszfátok előállítása

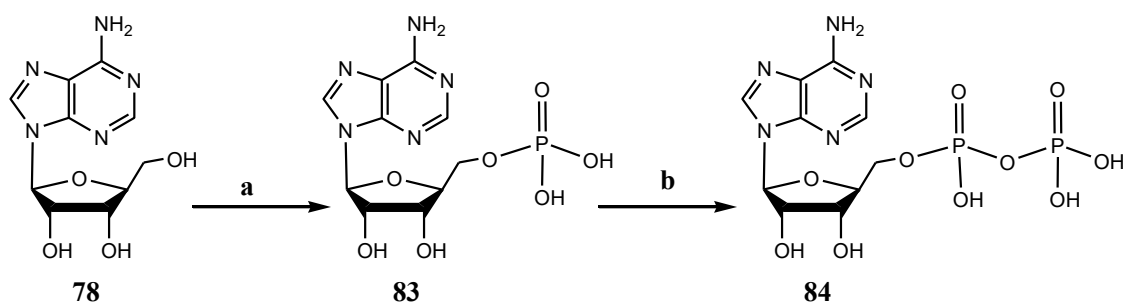
Az L-citidin-monofoszfátok szintézisét Yoshikawa módszerével ¹⁸² végeztük. L-citidinből trietilfoszfátban foszforoxikloriddal történő 5'-foszforilezéssel állítottuk elő a **81** monofoszfát származékot (31. ábra).



31. ábra Az *L*-citidin-5'-mono- és 5'-difoszfát szintézise. **a)** trietilfoszfát, foszforoxiklorid, 0-5 °C, 5 óra, TEA; **b)** DMF, $(\text{Bu}_3\text{N}^+\text{H})_2\text{HPO}_4^{2-}$, karbonil-diimidazol, 25 °C, 18 óra.

A reakcióelegy DEAE-Sephadex A-25 anioncserélő gyantán történő tisztítása után a termék még jelentős mennyiségű szervesen oldható sót tartalmazott, ezért az irodalomban²⁰⁰ leírt módszer helyett egy új tisztítási módszert dolgoztunk ki. A szilárd halmazállapotú szervesen oldható só és termék keverékét vízben oldva pH 2 értékre savanyítottuk 1N HCl hozzáadásával és egy Dowex 50W H8 H⁺ formájú gyantából öntött oszlopra vittük. Az oszlopot, a szervesen oldható komponensek (HCl, H₃PO₄) eltávolítása miatt először vízzel mostuk, majd tömény NH₄OH oldattal eluálva a tiszta *L*-CMP (**81**) ammónium sóját izoláltuk. A tiszta anyag spektrális adatai megegyeztek az irodalomban megadottakkal. A módosított tisztítási módszernek köszönhetően tisztább monofoszfát és jobb hozam (81%) volt elérhető az irodalomban¹⁸¹ közölthöz (48%) képest. A módszer előnye, hogy akár más a bázison amino csoportot tartalmazó nukleozid monofoszfátok tisztítására is alkalmazható. Az *L*-citidin-5'-difoszfát szintézisének a Gondeau és munkatársai¹⁸¹ által leírt módszer alapján végeztük a foszforilezést. A monofoszfát (**81**) DMF oldatát tri-*n*-butil-ammónium foszfátot adtuk hozzá. A kapott elegyhez karbonil-diimidazolt (CDI) és foszfátot tartalmazó DMF oldatot adva végeztük a reakciót. A reakcióelegyet bepárolva majd ioncsere kromatográfiával sómentesítve elfogadható hozammal (38%) izoláltuk az *L*-citidin-5'-difoszfátot (**82**).

Az *L*-adenozinból kiindulva foszforoxikloriddal állítottuk elő a **83** származékot trietilfoszfátot használva oldószernek (32. ábra). A reakcióelegy a DEAE-Sephadex A-25 anioncserélő gyantán történő tisztítása után a termék még jelentős mennyiségű szervesen oldható sót tartalmazott ezért az irodalomban²⁰⁰ leírt módszer helyett ez esetben is a **81** származék tisztítására kidolgozott módon sómentesítve jutottunk az *L*-AMP (**84**) ammónium sójához (75%).



32. ábra Az L-adenozin-5'-mono- és 5'-difoszfát szintézise. **a)** trietilfoszfát, foszforoxiklorid, 0-5 °C, 5 óra, TEA; **b)** DMF, $(\text{Bu}_3\text{N}^+\text{H})_2\text{HPO}_4^{2-}$, karbonil-diimidazol, 25 °C, 18 óra.

Az L-adenozin-5'-difoszfát szintézisét is a Gondeau és munkatársai^{181, 214} által közölt módszerrel végeztük **83** monofoszfátból. A sómentesítést DEAE Sephadex A-25 $[\text{HCO}_3^-]$ oszlopon víz majd TEAB oldat elúcióval végezve nyertük a **84** difoszfátot (47%). Az L-CDP és L-ADP származékokat további HPLC tisztítás, majd liofilizálás után használtuk a biológiai vizsgálatokban.

4.4 A biológiai vizsgálatok eredményei

4.4.1 Az *in vitro* citotoxicitás vizsgálata

Az általunk előállított a cukor- és bázismódosított-L-nukleozidokkal négy rákos sejtvonalon (Hel, HeLa, Vero, MDCK), a bázismódosított-*ara*-L-nukleozidokkal az említett négy sejtvonalon kívül még az L1210 sejtvonalon is *in vitro* citotoxicitás vizsgálatokat (MTT teszt, sejt proliferációs teszt) végeztünk a származékok daganatgátló hatásának megállapítására. Referenciaanyagként Hel sejtvonal esetén brivudint, cidofovirt, acyclovirt, ganciclovirt, HeLa és Vero sejtvonal esetén DS-5000-t, (S)-DHPA reagenst, ribavirint, MDCK (Madin Darby kutya vese) sejtvonal esetén zanamivirt, ribavirint, amantadint, rimantadint, L1210 sejtvonal esetén 5-fluor-uracilt (5-FU) és 5-fluor-2'-dezoxi-uridint (FdU) alkalmaztunk.²⁰⁶

Az MTT teszt lényege, hogy a 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromidot (MTT) kizárólag az élő sejtek képesek átalakítani formazánná mitokondriális dehidrogenáz enzimük segítségével. Ennek eredményeként az eredetileg sárga reagensből lila színű formazán kristályok keletkeznek majd ELISA-reader segítségével meghatároztuk az optikai denzitást (540 és 620 nm) DMSO oldatban. A magasabb optikai denzitású minták több élő sejt jelenlétére utalnak, míg a világosabb minták jelzik, hogy ott az élő sejtek kisebb mennyiségben vannak jelen. A citotoxicitás %-ot vagy a citosztázis %-ot számítással határoztuk meg. Az így kapott citotoxicitás % vagy citosztázis % értékeket ábrázoltuk a koncentráció függvényében és meghatároztuk azt a koncentráció értéket (IC_{50}), amely a sejtek 50%-át elpusztítja (citotoxicitás) vagy gátolja az osztódásban (citosztázis). Az IC_{50} értékek alapján a különböző anyagok hatása összehasonlítható. A vegyületeink esetében mért IC_{50} és EC_{50} értékeket a melléklet 3. táblázat tartalmazza. A vizsgált vegyületek közül csak a **12** származék volt HEL (EC_{50} 0.8 μ M) és a HeLa sejtvonalon (EC_{50} 20 μ M) citotoxikus. Az MDCK sejtvonalon a legnagyobb citotoxikus hatást (EC_{50} 20 μ M) a **12** származék esetében mértünk, azonban a vegyületek többsége már 100 μ M koncentrációban hatásosnak bizonyult. Az L1210 sejtvonalon végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy az *ara*-L-uridin **3** enyhe citotoxicitást mutatott addig az 5-halogén módosított származékai (**6**, **8**, **10**), nem bizonyultak hatásosnak 200 μ M koncentrációig. Míg az *ara*-L-citidin (**20**), és az 5-klór- (**22**), az 5-bróm- (**24**) származéka nem volt hatásos a vizsgált koncentráció tartományban, addig az 5-jód módosított származék közepes hatást mutatott.

Az 5-(2-tienil)-*ara*-L-uridin **12** ezen a sejtvonalon is jelentős (IC_{50} 13.8 μ M) citotoxicitást mutatott, a hasonlóan bázismódosított *ara*-L-citidin **28** viszont hatástalan volt. Az 5-(5-halotien-2-il)-*ara*-L-uridin származékok közül csak a klór- (**14**) és a jód- (**18**) származék mutatott citotoxicitást, míg a bróm- (**16**) származéknak nem volt hatása. Az 5-(5-halotien-2-il)-*ara*-L-citidin származékok közül csak a klór- (**30**) származék volt citotoxikus (IC_{50} 37.6 μ M). Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a vizsgált származékok közül három esetben tapasztaltunk említésre érdemes $IC_{50} < 50$ μ M citotoxicitást (**12**, **14**, **30**). A **12** származék minden általunk vizsgált sejtvonalon citotoxikusnak bizonyult és a legnagyobb hatást a HEL sejtvonalon mutatta (EC_{50} 0.8 μ M). Annak ellenére hogy a leghatásosabb anyag is egy nagyságrenddel nagyobb koncentrációban bizonyult hatásosnak mint a referenciaként alkalmazott anyagok, úgy gondoljuk, hogy a **12** származék cukorrészének módosításával előállított új **39**, **46**, **52**, **61**, **67**, és **73** vegyületeket érdemes lenne az L1210 sejtvonalon is vizsgálni.

4.4.2 Antivirális vizsgálat eredményei

Az antivirális vizsgálatokat a Leuveni Katolikus Egyetem Rega Intézetben Dr. Lieve Naesens és munkatársai végezték herpes simplex-1 (KOS), herpes simplex-1 (TK⁻ KOS ACV^r), herpes simplex-2 (G), vaccinia vírus, vesicular stomatitis vírus, coxsackie vírus B4, respiratory syncytal vírus, parainfluenza-3 vírus, reovírus-1, sindbis vírus, punta toro, influenza A H1N1 altípus (A/PR/8), influenza A H3N2 altípus (A/HK/7/87) és influenza B (B/HK/5/72) vírustörzseken citopatikus hatás vizsgálattal (CPE).

A legtöbb vegyület nem mutatott antivirális hatást egyik vírustörzsön sem. A herpes simplex-1 (KOS) vírustörzsön csak a **71** származék volt hatásos (EC_{50} 100 μ M), a respiratory syncytal vírustörzsön 11 vegyület (**2**, **10**, **16**, **34**, **37**, **44**, **47**, **56**, **62**, **65**, **68**) mutatott gyenge (EC_{50} 100 μ M) antivirális hatást. A reovírus-1 vírustörzsön és a punta toro vírustörzseken csak a 5-(2-tienil)-*ara*-L-uridinnak (**12**) volt említésre méltó (EC_{50} 100 μ M) hatása, míg a sindbis vírustörzsön csak a **12** származék volt hatásos (EC_{50} 45 μ M). A mért EC_{50} értékeket a melléklet 4.-7. táblázatai tartalmazzák.

4.4.3 Az adenzin- és a citidin-difoszfátok vizsgálata

A vírusos betegségek kezelésében alkalmazott L-nukleozidok jelentős része a D-antipódokhoz hasonló biológiai aktivitású, de a metabolikus enzimekkel szemben ellenállóbb és jobb biztonsági profillal rendelkezik. Az L-származékok említett előnyös tulajdonságai döntő részben a velük *in vivo* kölcsönhatásban levő enzimek enantioszelektivitására vezethető vissza. A D-nukleozidokhoz hasonlóan az L-antipódok biológiai aktivitásához szintén szükséges, hogy a sejt vagy vírus kinázok három lépésben történő foszforilezéssel az L-konfigurációjú szubsztrátot trifoszfáttá alakítsák. Ezen kinázok mérsékelt enantioszelektivitásának molekuláris szintű magyarázata ezért nagy jelentőségű.

A nem-természetes L-nukleozidok foszforilezése monofoszfát származékokká a citoszolikus dezoxicitidin kináz (dCK) és a szerkezetileg homológ mitokondriális timidin kináz 2 (TK2) közvetítésével történik.^{195,196} A dCK esetén mind az L mind a D szubsztrátokkal lejátszódó foszforilezés az aktív hely és a nukleobázis közötti nagyon flexibilis kölcsönhatásból ered. A difoszfáttá történő foszforilezést az UMP/CMP kináz (UMP/CMPK) és a TMP kináz (TMPK) végzi. Az UMP/CMPK és a TMPK enzimek és a hozzájuk kötődő D-nukleozidok kristályszerkezete ismert azonban az L-nukleozidok kötődése ezen enzimekkel nem ismert.²⁰⁰

A D-nukleozid-kötött kinázok szerkezetének homológia modellezéssel történő vizsgálata arra utal, hogy az UMP/CMPK és a TMPK mérsékelt enantioszelektivitása a ribózhhoz történő hidrogénhid kötés hiányából ered, amely ezáltal a cukorrész nagyfokú konformációs szabadságát eredményezi. A foszforilezés trifoszfáttá történő utolsó lépését a 3-foszfoglicerát kináz (PGK) közvetíti. A PGK egy széles szubsztrátspecifitású enzim, amely számos D- és L-nukleozid-difoszfát foszforilezését végzi.²⁰³ Különböző PGK enzimek (ló, sertés, élesztő, bacillus) ligandum nélküli szerkezetét valamint biner és terner enzim-szubsztrát komplexét leírták a szakirodalomban azonban ezek az adatok nem magyarázzák azt a tényt, hogy az PGK miért képes felismerni a nukleozidok széles körét, mint például a purin és pirimidin származékokat és ezek D- és L-formáit. Emberi PGK (hPGK) enzimekkel végzett kísérletekben sikerült bizonyítani, hogy a hPGK szerkezetében a nukleotid nélküli valamint az MgADP és MgCDP L és D formáival létezik egy nem-specifikus hidrofób kapocs a nukleotid bázishoz valamint mögötte egy vízzel töltött üreg, amely nagyfokú flexibilitást tesz lehetővé a PGK és a bázisok kölcsönhatása során.¹⁸¹

A PGK enzim szubsztrátspecifitását kinetikai vizsgálatokkal és szerkezeti modellezéssel (dokkolás) hasonlítottuk össze a piruvát kináz (PK) és a kreatin kináz (CK) enzimmel. A kötődésvizsgálatok megerősítették a már korábban publikált eredményeket, miszerint a purin

nukleozidokat (pontosabban GDP) sokkal jobban foszforilálja a PGK mint a PK és a CK. Ezzel ellentétben a pirimidin nukleozidok esetében a PK és a CK sokkal jobb, mint a PGK. Mivel az irodalomban nem találtunk a PKG, PK és a CK-enzimek L-nukleozidok toleranciájára vonatkozó összehasonlító adatokat, ezért összehasonlító kinetikai és dokkolási vizsgálatokat végeztünk L-ADP-vel és L-CDP-vel. A vegyületek dokkolásához a GOLD (Genetic Optimization for Ligand Docking) CCDC szoftvert, a dokkolás pontosításához a CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) programot a nukleozid kötődésének a vizuális megjelenítéshez és elemzéséhez pedig a INSIGHT II szoftvert használtuk.

A modellezésből és a kötődésvizsgálatból kapott eredmények is azt mutatták, hogy a PGK katalitikus hatékonysága nagyságrendekkel felülmúlja a másik két enzimét. (Táblázat 2.)

Táblázat 2. *A különböző kinázok enantioszelektivitásának összehasonlítása ADP és CDP szubsztrátokon. kcat: katalitikus állandó (s^{-1}), v: reakciósebesség (s^{-1}). A reakciósebességeket 2.5 mM állandó koncentráció mellett határoztuk meg.*

Nukleotidok	PGK			PK			CK		
	kcat (s^{-1})	v (s^{-1})	v (%)	kcat (s^{-1})	v (s^{-1})	v (%)	kcat (s^{-1})	v (s^{-1})	v (%)
D-ADP	1085	1035	100	151	66	100	345	338	100
L-ADP	685	618	59.7	n.d.	0.045	0.0298	n.d.	2.8	0.83
D-CDP	2.8	0.363	0.035	48	10.7	7.1	26.4	6.3	1.9
L-CDP	58	31.9	3.1	n.d.	0.019	0.0126	n.d.	n.d.	n.d.

Megállapítottuk továbbá, hogy az L-CDP jobb PGK szubsztrát mint a D-DCP. A PGK, a PK és CK enzimekkel ellentétben a D/L-konfigurációjú nukleozidok közül az L-formát (a bázis akár purin vagy pirimidin) kiválóan tolerálja. A modellvizsgálatok kimutatták azt is, hogy a hidrofób kölcsönhatásnak köszönhetően a PGK a purin származékok esetében kevésbé érzékeny a ribóz 2'-hidroxiljának hiányára, mint a pirimidin származékoknál. Másfelől pedig a foszfátlánc pozicionálása sokkal fontosabb paraméter mint az, hogy purin vagy pirimidin L-nukleozidról van szó. Az L-nukleozid származékok a legtöbb esetben kevésbé bizonyultak toxikusnak, mivel nem ismerik fel őket a gazdasejt polimerázok, viszont jól felismerhetők a HIV reverz transzkriptáz²¹⁵ számára. Az L-analógokat a PGK hatékonyabban foszforilálja a más kinázokhoz képest és így ezek a vegyületek általában hatásosabbak a HIV ellen mint a megfelelő D-antipódjaik.⁸

Ezentúl megállapítható az is, hogy a cukorrésszel történő hidrogénhid kötések és az ionos kölcsönhatások a foszfát csoportokkal a különböző nukleotidok olyan kötődését eredményezi, amelyben a difoszfát csoport a katalízis szempontjából kedvező helyzetet foglal el. Pirimidin bázisú L-prodrugok tervezése során az hPGK-szubsztrát komplexek szerkezete alapján úgy tűnik, hogy egy ribóz oxigént érdemes megtartani, amely a kötődés során hidrogénhid kötést tud kialakítani az enzim Glu-343 maradékával. A dideoxiribóz származékoknál mivel ilyen kölcsönhatás nem alakul ki várhatóan az antivirális hatás is mérsékeltebb lesz. A bázisrész módosításai viszont a cukorrész orientációját befolyásolják a kötőhelyen. A Glu-343 és a ribóz közötti hidrogén híd kölcsönhatások azonban nem szigorú kritériumok a katalízis szempontjából mivel a foszfát csoportok nélkül is hasonló elhelyezkedésűek lehetnek elektrosztatikus kölcsönhatások miatt.

5. Összefoglalás, eredmények

Az antivirális és citotoxicitás szerkezet-hatás összefüggés vizsgálatokra előállítottuk a tervezett 34 célvegyületet. A vegyületeket - figyelembe véve a szerkezeti hasonlóságokat - két molekula-könyvtárba soroltuk. A bázismódosított L-arabino-származékokat tartalmazó molekula-könyvtár 16 uridin és citidin származékot tartalmaz. Az előállított uridin származékok az *ara*-L-uridinen (3) kívül az 5-(klór, bróm, jód)-*ara*-L-uridint (6, 8, 10), illetve az 5-tienil-*ara*-L-uridint 12 és annak 5-klór (14), 5-bróm (16) és 5-jód (18) származékait foglalták magukba. A citidin származékok pedig az *ara*-L-citidinen (20) kívül az 5-(klór, bróm, jód)-*ara*-L-citidint (22, 24, 26), illetve az 5-tienil-*ara*-L-citidint (28) és annak 5-klór (30), 5-bróm (32) és 5-jód (34) származékai. A felsorolt vegyületek közül 13 új vegyület (6, 8, 12, 14, 16, 18, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34) és három az irodalomban korábban leírt vegyület (3, 10, 20), alkotta a szerkezet-hatás vizsgálatokhoz tervezett könyvtárat.

A bázis- és cukorrész módosított L-ribo-származékokat tartalmazó molekula könyvtárat 18 módosított L-uridin származék alkotja. A 2' szénatomon hidroxil csoportot tartalmazó L-uridinen (41) kívül előállítottuk a 2'-deoxi-2'-azido- (47), 2'-fluor- (56), 2'-klór- (62) és 2'-bróm- (68) származékokat. A könyvtár magába foglalja a 2,2'-anhidro-L-uridint (2) is. Minden egyes cukorrész módosított származék esetében, beleértve a 2,2'-anhidro-uridint is, előállítottuk azok 5-jód (37, 44, 50, 59, 65, 71) illetve az 5-tienil bázismódosításait is (39, 46, 52, 61, 67, 73). A könyvtár 11 új vegyületet (37, 39, 46, 47, 50, 52, 61, 65, 67, 71, 73) tartalmaz, a többi már irodalomban leírt molekula, amelyeket a pontosabb szerkezet-hatás vizsgálatok miatt állítottunk elő. A molekula könyvtárakat alkotó vegyületek fizikai-kémiai (olvadáspont, forgatóképesség, oldhatóság dimetil-szulfoxidban), kromatográfiás (VRK) és spektroszkópiai (^1H -, ^{13}C - és a fluor származékok esetében ^{19}F -NMR, tömegspektrum, nagyfelbontású tömegspektrum, infravörös spektrum) tulajdonságait is meghatároztuk.

A cukor- és bázismódosított-L-nukleozidokkal Hel, HeLa, Vero, MDCK sejtvonalakon, míg a bázismódosított-*ara*-L-nukleozidokkal az említett négy sejtvonalon kívül még az L1210 sejtvonalon is *in vitro* citotoxicitás vizsgálatokat végeztünk antitumor hatásuk megállapítására.

A vizsgált vegyületek közül csak a **12** származék mutatott a HEL sejtvonalon (EC_{50} 0.8 μ M) és a HeLa sejtvonalon (EC_{50} 20 μ M) citotoxicitást. Az MDCK sejtvonalon a legnagyobb citotoxikus hatást (EC_{50} 20 μ M) a **12** származék esetén mértük, azonban a vegyületek többsége már 100 μ M koncentrációban hatásosnak bizonyult. Az L1210 sejtvonalon végzett vizsgálatok azt mutatták hogy a módosított *ara*-L-uridin származékok közül csak a **12** származék mutatott hatást (IC_{50} 13.8 μ M), ami egy nagyságrenddel megközelítette a terápiában használatos 5-fluor-uracilt. A módosított *ara*-L-citidin származékok közül pedig a **30** (IC_{50} , 37.6) és a **18** (IC_{50} , 47.3 μ M) származékok bizonyultak a leghatásosabbaknak az L1210 sejtvonalon.

Mindkét molekulakönyvtár vegyületeinek antivirális hatását a Leuveni Egyetem Riga Intézetének munkatársai vizsgálták. A 14 vizsgált vírustörzsön a legtöbb anyag nem mutatott antivirális hatást. A herpes simplex-1 (KOS) vírustörzsön a **71** származék volt hatásos (EC_{50} 100 μ M), respiratory syncytal vírustörzsön 11 vegyület (**2**, **10**, **16**, **34**, **37**, **44**, **47**, **56**, **62**, **65**, **68**) mutatott csekély antivirális hatást (EC_{50} 100 μ M). A reovirus-1 és a punta toro vírustörzseken 100 μ M, míg a sindbis vírustörzsön 45 μ M volt az EC_{50} értéke a **12** származéknak.

Kooperációs munka keretében az MTA SZBK Enzimológiai Intézete részére L-adenozin- és L-citidin-5'-difoszfátot állítottunk elő a PGK-katalizált enzimreakciók vizsgálatához. A kötődésvizsgálatok megerősítették a már korábban publikált eredményeket, miszerint a purin nukleozid GDP molekulát a PGK nagyobb affinitással foszforilálja mint a PK és a CK enzimek. Ezzel ellentétben a pirimidin nukleozidok esetében a PK és a CK hatásosabbnak bizonyult, mint a PGK. A számítógépes dokolási vizsgálatokat GOLD és CHARMM szoftverrel végezve és a mérési eredmények alapján is az L-CDP a PGK jobb szubsztrátjának bizonyult mind a D-CDP. A jövőben tervezzük a bázis- és cukorrész módosított L-ribo-származékok citotoxicitásának vizsgálatait az L1210 sejtvonalon. Mivel a két molekulakönyvtár biotesztjét főleg RNS vírustörzseken vizsgáltuk célszerű lenne a biológiai vizsgálatok kiterjesztése további DNS vírustörzsekre (variola vírus, VZV, CMV, EBV, HBV) is.

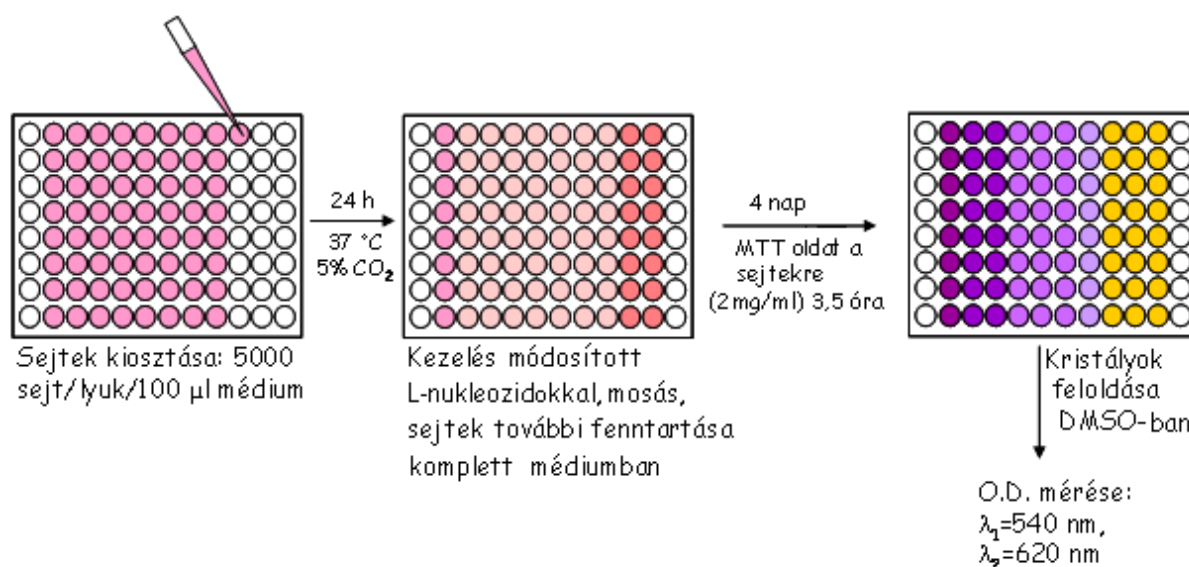
6. Kísérleti rész

6.1 Alkalmazott műszerek, vegyszerek, analitikai módszerek

Az olvadáspontokat Boetius olvadáspontmérővel mértük és a kapott értékek nem lettek korrigálva. Az infravörös spektrumokat Nicolet Avatar 320 FT-IR spektrométeren vizsgáltuk. A ^1H , ^{13}C és a ^{19}F NMR spektrumok VARIAN UNITY INOVA 300-as spektrométerrel 300 MHz-es felbontással készültek. A Me_4Si belső standardhez viszonyított kémiai eltolódásokat (δ) ppm-ben tüntettük fel. A jelek multiplicitásának jelölésére a következő rövidítéseket alkalmaztuk: s (szinglet), bs (kiszélesedett szinglett), d (dublett), dd (dupla dublett), t (triplett) és m (multiplett). A tömegspektrumokat az AB SCIEX API 2000, a nagyfelbontású tömegspektrumokat Waters QTOF Premier spektrométerrel, elektropray ionizáció (ESI) alkalmazásával mértük. Az optikai forgatóképességet a JASCO P-2000 polariméterrel határoztuk meg. A reakciók követéséhez szilikagél 60 F_{254} (Merck) vékonyrétegeket használtunk. A vékonyrétegekromatográfiás lapokon a vegyületek detektálása UV fény (254 és 360 nm) használatával történt. Olyan esetekben mikor a molekula nem tartalmazott kromofor csoportot 3% kénsavat tartalmazó etanolos oldatba merítést követő melegítéssel hívtuk elő a vékonyréteg lapokat. A nyers reakciótermékek tisztítására Kieselgel 60, 0.04-0.063 mm szemcseméretű szilikagélt (Fluka) használtunk. A reakciókban alkalmazott metil-propiolátot a Maybridge, ciánamidot az Alfa Aesar, az L-arabinózt a Reanal és a 2-tributylsztanil-tiofént az Aldrich szállította. A többi reagens a Fluka cégtől származik. A piridint foszforpentoxidról, az *N,N*-dimetilformamidot kalcium-hidridről, a diklórmétánt és az 1,2-diklóretánt pedig vízmentes kalcium-kloridról desztilláltuk le használat előtt. Az ioncsere kromatográfiához DEAE-Sephadex A-25 [HCO_3^-] és Dowex 50x4 [H^+], a pH semlegesre állításához pedig Dowex 50W 50x2 [H^+] ioncserélő gyantát használtunk. A citotoxicitás méréseknél a minták abszorbanciáját ELISA Reader (Labsystems MS reader, Finnország) spektrométerrel mértük $\lambda = 540$ és 620 nm hullámhosszon. A nukleozid származékok esetében a DMSO oldhatóságot körülbelül de pontosan kimért 5-10 mg származékhoz 2.5 μL -es DMSO adagok hozzáadásával állapítottuk meg. A gyorsabb oldódást ultrahangos rázással segítettük elő. Ez a módszer 200 mg/mL oldhatóság esetén ± 20 mg/mL hibát jelent.

6.2 *In vitro* citotxicitás vizsgálatok

A citotoxicitás vizsgálatok során a kísérletet megelőző napon a sejteket 96 lyukú lemezekbe osztjuk ki (5000 sejt/ lyuk 100 μL FCS-tartalmú médiumban (fetal calf serum)). Az osztás után 24 órával 50 μL szérumszéntartalmú médiumot eltávolítjuk, majd a kontroll sejtekre 150 μL szérumszentes médiumot teszünk, a kezelt sejtekre pedig 50 μL szérumszentes médiumot és 100 μL kezelőoldatot. A kezelőoldatok készítéséhez a vizsgálandó vegyületeket szérumszentes médiumban oldjuk fel (a rosszul oldódó vegyületek esetén DMSO oldás után szérumszentes médiummal hígítjuk), majd az oldatokból további hígításokat végzünk szérumszentes médiummal. Az anyagok végkoncentrációja a sejteken $2,56 \times 10^{-4}$ és 100 μM között változott. Az *in vitro* citosztatikus hatás meghatározásához a kezelési idő letelte 3 óra után a sejteket kétszer mossuk szérumszentes médiummal, majd szérumszéntartalmú médiumot helyezünk a sejtekre és 72 órán át 37°C-on inkubáljuk őket.



33. ábra Az *in vitro* citosztatikus hatás meghatározásának vázlatos áttekintése

A 72 órás inkubálás után az anyagok citosztatikus hatását MTT-tesztel határozzuk meg.²¹⁶ Az *in vitro* citotoxicitás megállapításához az MTT tesztet rögtön a kezelést követően végezzük. Ennek során a sejtekhez 45-45 μL (c 2 mg/mL) MTT-oldatot adunk, amit három és fél órán át hagyunk a sejteken. Ennek eredményeként az eredetileg sárga reagensből lila színű kristályok keletkeznek, amelyeket az inkubációs idő letelte után dimetilszulfoxidban oldunk fel és ELISA-reader segítségével meghatározzuk az optikai denzitást 540 és 620 nm-en. A magasabb optikai denzitású minták több élő sejt jelenlétére utalnak, míg a világosabb minták

jelzik, hogy ott az élő sejtek kisebb mennyiségben vannak jelen. A citotoxicitás %-ot vagy a citosztázis %-ot a következő képlet segítségével határozzuk meg:

$$\text{citotoxicitás \% vagy citosztázis \%} = [1 - (\text{OD}_{\text{kezelt}} / \text{OD}_{\text{kontroll}})] \times 100$$

Az így kapott citotoxicitás % vagy citosztázis % értékeket ábrázoljuk a koncentráció függvényében és meghatározzuk azt a koncentráció értéket, amely a sejtek 50%-át elpusztítja (citotoxicitás) vagy gátolja az osztódásban (citosztázis). Ez az érték az IC_{50} . A kapott IC_{50} értékek alapján összehasonlíthatjuk a különböző anyagok hatását: ugyanazon sejten minnél kisebb az IC_{50} , annál nagyobb az adott anyag citosztatikus hatása vagy citotoxicitása.

6.3 Reagensek és katalizátorok előállítása

Lítium-azid

A nátrium-azid (1.30 g, 20.0 mmol) vizes oldatához (7 mL) lítium-kloridot (850 mg, 20 mmol) adunk és a szuszpenziót addig kevertetjük, míg homogén oldatot nem kapunk. Az elegyet ezután etanolt (35 mL, 96%) adunk, majd 2 órát állni hagyjuk, hogy kiülepedjen a kivált NaCl, amit szűréssel távolítjuk el. Az anyalúgot bepároljuk majd exikátorban egy éjszakát foszforpentoxid felett szárítva kapjuk a fehér kristályos terméket (1.10 g, 95 %).

N-jódszukcinimid ²¹⁷

A finoman elporított jódot (15.0 g, 118 mmol) és az *N*-bróm-szukcinimidet (10.0 g, 56 mmol) széntetrakloridban (20 mL) szuszpendáljuk, majd 50 °C-on 40 percen át kevertetjük, amíg egy sűrű géles anyagot nem kapunk. A reakcióelegyet ezután széntetrakloriddal (40 mL) meghígítjuk és további egy órát kevertetjük 45 °C-on. A szobahőmérsékletre hűlt reakcióelegyből a kivált terméket szűréssel eltávolítjuk. A kapott nyersterméket forró dioxánban (14 mL) oldjuk és széntetraklorid (7 mL) hozzáadása után hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni. A kivált fehér kristályokat kiszűrjük, majd szobahőmérsékleten fülke alatt enyhe légáramban szárítjuk (9.57 g, 76 %). Op.: 196-198 °C.

Ezüst(I)-szulfát (Ag₂SO₄)

Az ezüst(I)-nitrát (20.00 g, 117.7 mmol) vizes oldatához (50 mL) K₂SO₄ (10.26 g, 58.8 mmol) vizes oldatát (150 mL) csepegtetjük intenzív kevertetés mellett. Fél óra utókevertetés után a kivált csapadékot kiszűrjük, majd vízzel (3x50 mL) mossuk és vákuumban 40 °C-on szárítjuk. Az izolált termék szürke színű kristályos anyag (16.83 g, 92 %).

Bis(trifenilfoszfin)-palládium(II)-diklorid ((Ph₃P)₂PdCl₂)²¹⁸

A palládium(II)-klorid (0.66 g, 3.71 mmol) és kálium-klorid (0.55 g, 7.42 mmol) vizes oldatához (18 mL) kevertetés közben hozzáadjuk a trifenil-foszfin (1.94 g, 7.42 mmol) meleg etanolos (18 mL) oldatát. Az elegyből azonnal kiválik a termék, sárga csapadék formájában. A reakcióelegyet fél órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd a csapadékot kiszűrjük, amit vízzel (2x3 mL), etanollal (2x3 mL) és végül acetonnal (2x3 mL) mosunk és vákuum exikátorban foszforpentoxid felett szárítunk 24 órát (2.40 g, 92%).

6.4 A szintézisek során alkalmazott általános módszerek

Benzoilezés

Módszer A: az L-nukleozidok és az 1-*O*-metil-L-ribofuranozid benzoilezésére.

Az L-nukleozidot (1.00 mmol) DCM (15 mL) és piridin (15 mL) elegyében oldjuk majd jeges vizes hűtés mellett benzoil-kloridot (370 μ L, 3.20 mmol) csepegtetjük hozzá. A reakcióelegyet 10 °C-on 16 órát kevertetjük majd bepároljuk. A maradékot diklórmétánban (50 mL) oldjuk, majd vízzel (2x20 mL), telített NaHCO₃ oldattal (1x20 mL) és telített NaCl oldattal (1x20 mL) extraháljuk. Szárazra párolás után a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

Módszer B: a 2'-dezoxi-L-nukleozidok benzoilezésére

A 2'-dezoxi származékot (2.00 mmol) DCM (20 mL) és piridin (20 mL) elegyében oldjuk majd jeges vizes hűtés mellett benzoil-kloridot (540 μ L, 4.65 mmol) csepegtetjük hozzá. A reakcióelegyet 10 °C-on 16 órát kevertetjük majd bepároljuk. A maradékot diklórmétánban (50 mL) oldjuk majd vízzel (2x20 mL), telített NaHCO₃ oldattal (1x20 mL) és telített NaCl oldattal (1x20 mL) extraháljuk. Az oldószer lepárlása után a nyersterméket minden esetben oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

Az L-nukleozidok jódozás az 5-ös szénatomon

A nukleozid származékot (1.00 mmol) absz. 1,2-diklóretánban (20 mL) oldjuk, majd *N*-jód-szukcinimidet (160.2 g, 1.20 mmol) adunk az elegyhez. Trietilamin (1 mL) hozzáadása után az elegyet 2 órán keresztül 60 °C-on kevertetjük. A felesleges jódot flash-kromatográfiával távolítjuk el. Üvegszűrőre diklórmétánban szuszpendált szilikagélt (10 g) rétegzünk majd a reakcióelegyet minimális diklórmétánban oldva a szilikagélre adszorbeáljuk. A jód lila színének eltűnéséig mossuk diklórmétánnal. A jódmentes terméket ezután hexán-EtOAc (1:1) eleggyel eluáljuk az oszlopról, majd szárazra pároljuk.

Stille kapcsolás

Módszer A: Az 5-jód-L-nukleozidot (1.00 mmol) *N,N*-dimetilformamidban (25 mL) oldjuk, majd Pd(PPh₃)₄ (58 mg, 0.05 mmol) hozzáadása után az elegyet 15 percet 95 °C-on kevertetjük. Tri-*n*-butilsztannil-tiofén (510 μ L, 1.60 mmol) hozzáadása után az elegyet további 4 órán keresztül kevertetjük. A reakcióelegy bepárlása után kapott maradékot diklórmétánban (50 mL) oldjuk, vízzel (2x20 mL) és telített NaHCO₃ oldattal (1x20 mL)

extraháljuk. Az oldatot szárítjuk (MgSO_4), majd szárazra pároljuk. A nyers terméket szilikagél oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

Módszer B: Az 5-jód nukleozidot (1.00 mmol) dioxánban (25 mL) oldjuk, majd $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (58 mg, 0.05 mmol) hozzáadása után az elegyet 15 percet 95 °C-on kevertetjük. Tri-*n*-butilsztannil-tiofén (510 μL , 1.60 mmol) hozzáadása után az elegyet 4 órán keresztül kevertetjük. A reakcióelegy bepárlása után kapott maradékot diklórmétánban (50 mL) oldjuk, vízzel (2x20 mL) és telített NaHCO_3 oldattal (1x20 mL) extraháljuk. Az oldatot szárítjuk (MgSO_4), majd szárazra pároljuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

Uridin származékok citidin származékokká alakítása 4-(1,2,4-triazol-1-il) intermediereken keresztül

A 4-(1,2,4-triazol-1-il) intermediér előállítása

Triazolt (620 mg, 9.00 mmol) absz. piridinben (15 mL) oldjuk, majd jeges-vizes hűtés mellett POCl_3 reagenst (280 μL , 460 mg) csepegtetünk hozzá. Fél óra kevertetés után a kivált fehér csapadékot (piridin-hidrokloridot) kiszűrjük. Jeges hűtést alkalmazva hozzácsepegtetjük a nukleozid származék (1.00 mmol) absz. piridines (15 mL) oldatát. Szobahőmérsékletre melegedés után az elegyet 16 órát kevertetjük. Trietilamin (1.67 mL, 12.00 mmol) hozzáadása után az oldatot szárazra pároljuk, majd diklórmétánban (50 mL) oldjuk és jeges vízzel (1x20 mL) óvatosan mossuk. A szerves fázist szárítás után szárazra pároljuk 35 °C-os fürdőhőmérsékleten.

A 4-(1,2,4-triazol-1-il) intermediér ammonolízise

A triazolil származékot (1.00 mmol) dioxánban (50 mL) oldjuk, majd NH_4OH oldatot (15 mL, 25%) adunk az elegyhez és szobahőmérsékleten négy-nyolc órán keresztül kevertetjük. Az elegyet szárazra pároljuk. A nyersterméket szilikagél oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

A benzoil és az acetil védőcsoportok eltávolítása Zemplén féle dezacetilezéssel

A védett nukleozidot (1.00 mmol) NaOMe oldatban (40 mL, 0.1 M) oldva 16 órát szobahőmérsékleten kevertetjük, majd víz (10 mL) hozzáadása után az elegy pH értékét Dowex 50W-50x2 $[\text{H}^+]$ ioncsrlő gyantával semlegesre állítjuk. A kiszűrt gyantát uridinek esetében metanollal (2x10 mL), citidinek esetében pedig híg ammónia oldattal (2x10 mL) majd metanollal (2x10 mL) mossuk. Az egyesített vizes fázisokat szárazra pároljuk majd a bepárlási maradékot oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. A tisztításhoz használt szilikagél mennyisége és az eluensek összetétele az egyes anyagok előállításánál található.

6.5 Az 5-(klór/bróm/ jód)-*ara*-L-uridinek szintézise

2-Amino- β -L-arabinofurano-[1',2':4,5]-oxazolin (1)

Metanol (30 mL), víz (2.5 mL) és ammónia oldat (2.5 mL, 25%) elegyében szuszpendált L-arabinózt (15.00 g, 100.00 mmol) és ciánamidot (9.00 g, 214.00 mmol) 3 napon keresztül szobahőmérsékleten kevertetünk. A kivált csapadékot szűrjük és etanollal (3x20 mL, 96 %) mossuk. A termék tömege szárítás után 10.70 g. Az anyalúgot bepároljuk és szilikagél oszlopkromatográfiával (50g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 1:1) tisztítjuk. A tisztítással nyert anyag tömegével (3.40 g) együtt 14.10 g (81 %) termék izolálható. Op.: 160-161 °C, R_f (DCM:MeOH, 1:1) = 0.25, ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.25 (1H, m, H5'), 3.62 (1H, m, H4'), 3.99 (1H, m, H3'), 4.51 (1H, m, H2'), 4.71, 5.41 (2H, bs, OH) 5.64 (1H, d, $J=5.4$ Hz, H1'), 6.30 (2H, bs, NH₂). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 62.2 (C5'), 76.3 (3'), 85.3 (4'), 88.8 (2'), 100.5 (1'), 163.0 (2). ESI MS m/z számolt C₉H₁₂N₂O₆=174.0, mért: [M+H]⁺= 174.9.

2,2'-Anhidro-L-uridin (2)

Víz (100 mL) és etanol (100 mL, 96 %) elegyében szuszpendált 2-amino- β -L-arabinofurano-[1',2':4,5]-oxazolint (1) (15.00 g, 86.01 mmol) metil-propiolát (10 mL, 112.40 mmol) hozzáadása után 5 órán keresztül refluxolunk. A reakcióelegyet szárazra pároljuk, majd etanollal (20 mL) trituáljuk. A kivált fehér szilárd anyagot absz. etanollal (3x10 mL) mossuk. (12.18 g, 63 %). Op.: 221-225 °C, R_f (DCM:MeOH, 1:1) 0.55. $[\alpha]_D^{25} +44^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3366 (OH); 3276 (NH); 1651 (C=O, laktám); 1624,1530,1481, (C=C, pirimidin váz); 1237, 1088, 1067, 1038, 1017, 1003, 950, 832, 573. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.22 (2H, m, H5'), 4.05 (1H, m, H4'), 4.36 (1H, m, H3'), 4.96 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H2'), 5.18 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, OH), 5.82 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H5), 5.88 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, OH), 6.28 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H1'), 7.80 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H6). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 61.5 (C5'), 75.4 (C3'), 89.4 (C4'), 89.9 (C2'), 90.7 (C1'), 109.3 (C5), 137.5 (C2), 160.5 (C6), 172.0 (C4). ESI MS m/z számolt (C₉H₁₀N₂O₅) = 226.2, mért: [M+Na]⁺= 249.1. HRMS-ESI [M+Na]⁺ m/z számolt=249.0491, mért: 249.0487.

ara-L-Uridin (3)

A 2 anhidro származékot (6.40 g, 28.30 mmol) víz (50 mL) és etanol (25 mL, 96 %) elegyében oldjuk, majd NaOH vizes oldatát (2.26 g, 56.60 mmol 10 mL vízben) adjuk hozzá és az elegyet szobahőmérsékleten egy órán keresztül kevertetjük. Az oldat pH értékét Dowex 50W-50x2 [H⁺] ioncsrlő gyantával semlegesre állítjuk. A kiszűrt gyantát vízzel (2x10 mL)

mossuk. Az egyesített vizes fázisokat szárazra párolva 6.81 g (98 %) tiszta **3** származékot nyerünk. Op.: 226-229 °C, R_f (DCM:MeOH,1:1) 0.70. $[\alpha]_D^{25}$ -112 ° (c 0.25; MeOH), IR γ/cm^{-1} (KBr) 3438 (OH); 3218 (NH); 1689 (C=O, laktám); 1620, 1459 (C=C, pirimidin váz); 1394, 1273, 1119, 1078, 813, 585. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.57 (2H, m, J = 5.4 Hz, H5'), 3.71 (1H, m, J = 4.5 Hz, H4'), 3.88 (1H, t, J = 3.3 Hz, H2'), 3.98 (1H, t, J = 3.6 Hz, H3'), 5.03 (1H, bs, OH), 5.46 (1H, bs, OH), 5.54 (2H, d, J = 7.8 Hz, H5, OH), 5.96 (1H, d, J = 4.5 Hz, H1'), 7.61 (1H, d, J = 8.1 Hz, H6), 11.22 (1H, bs, NH) ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 61.4 (C5'), 75.9 (C2'), 76.2 (C3'), 85.3 (C4'), 85.7 (C1'), 100.6 (C5), 142.9 (C6), 151.1 (C2), 164.0 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$ =244.1, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 245.3, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=245.0774, mért: 245.0776.

2',3',5'-Tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (4)

A **3** származékot (1.80 g, 7.38 mmol) benzoilezve (módszer A) a kapott nyerste­r­méket szilikagél kromatográfiával (100g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a **4** terméket (3.70 g, 90 %). Op.: 178-180 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.30 . ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.54 (1H, m, H4'), 4.87 (2H, m, H5'), 5.59 (1H, d, J = 8.1 Hz, H5), 5.65 (1H, t, J = 2.4 Hz, H2'), 5.87 (1H, t, J = 3.9 Hz, H3'), 6.45 (1H, d, J = 3.9 Hz, H1'), 7.26-8.11 (16H, m, Ph, H6), 9.26 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 63.5 (C5'), 75.5 (C2'), 76.6 (C3'), 81.2 (C4'), 84.9 (C1'), 101.8 (C5), 128.5-134.0 (Ph), 140.4 (C6), 149.9 (C2), 162.9 (C4), 164.7-166.2 (PhC=O). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$ =556.1, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 557.1.

5-Klór-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (5)

A **4** származékot (250 mg, 0.45 mmol) acetonitril és jégcet 1:1 elegyében (20 mL) oldjuk, majd hozzáadjuk a lítium-kloridot (23 mg, 0.54 mmol) és a cérium(IV)-ammóniumnitrátot (651 mg, 1.19 mmol) és az elegyet 80 °C -on 8 órát kevertetjük. A reakció előrehaladását vékonyréteg kromatográfiával követjük. A klórozás befejezése után a reakcióelegyet bepároljuk és a bepárlási maradékot diklórmétánban (50 mL) oldva vízzel (2x20 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4), és az oldószert lepároljuk. A nyerste­r­méket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) tisztítva kapjuk az **5** klórszármazékot (230 mg, 87 %) Op.: 136-138 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.48. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.55 (1H, m, H4'), 4.80, 4.99 (2H, m, H5'), 5.62 (1H, d, J = 3.0 Hz, H2'), 5.84 (1H, d, J = 3.6 Hz, H3'), 6.51 (1H, d, J = 3.6 Hz, H1'), 7.26-8.11 (16H, m, Ph, H6). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 63.0 (C5'), 75.6 (C2'), 77.3 (C3'), 81.9 (C4'), 85.2 (C1'), 109.1 (C5), 128.8-

134.4 (Ph), 137.9 (C6), 148.9 (C2), 158.4 (C4), 164.8-166.5 (PhCO). ESI MS m/z : számolt: $C_{30}H_{23}ClN_2O_9 = 590.1$, mért: $[M+H]^+ = 591.3$.

5-Klór-*ara*-L-uridin (6)

Az **5** klórszármazék (230 mg, 0.39 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) eredményezi a **6** származékot (88 mg, 81.3 %). Op.: 227-230 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.47, $[\alpha]^{25}_D -72^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3367 (OH); 3291 (NH); 1708 (C=O, laktám); 1621, 1435 (C=C, pirimidin váz); 1282, 1087, 1046 (Ar-Cl); 1031, 805, 690, 593. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.59 (2H, m, H5'), 3.72 (1H, m, H4'), 3.89 (1H, m, H2'), 3.99 (1H, m, H3'), 5.14 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, OH.), 5.47 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, OH), 5.61 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.94 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H1'), 7.97 (1H, s, H6), 11.78 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.9 (C5'), 75.5 (C2'), 75.9 (C3'), 85.4 (C4'), 86.0 (C1'), 106.4 (C5), 139.8 (C6), 150.2 (C2), 159.8 (C4). ESI MS m/z számolt: $C_9H_{11}ClN_2O_6 = 278.0$, mért: $[M-H]^- = 276.7$, HRMS-ESI $[M+H]^+ m/z$ számolt=279.0384, mért: 279.0384.

5-Bróm-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (7)

A **4** származékot (250 mg, 0.45 mmol) acetonitril és jégcet 3:1 elegyében (20 mL) oldjuk, majd hozzáadjuk a lítium-bromidot (47 mg, 0.54 mmol), a cérium(IV)-ammóniumnitrátot (651 mg, 1.19 mmol) és az elegyet 80 °C-on 8 órát kevertetjük. A brómozás befejezése után az elegyet bepároljuk. A bepárlási maradékot diklórmetánban (50 mL) oldjuk, majd vízzel (2x20 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4), majd bepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) tisztítva izoláljuk a **7** brómszármazékot (250 mg, 88 %). Op.: 142-144 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.52. 1H NMR ($CDCl_3$) δ : 4.55 (1H, m, H4'), 4.81, 5.00 (2H, m, H5'), 5.61 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H2'), 5.82 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H3'), 6.52 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 7.26-8.11 (16H, m, Ph, H6). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ : 62.9 (C5'), 75.5 (C2'), 76.7 (C3'), 81.8 (C4'), 85.0 (C1'), 96.7 (C5), 128.7-134.2 (Ph), 140.5 (C6), 149.1 (C2), 158.4 (C4), 164.8-166.5 (PhCO). ESI MS m/z számolt $C_{30}H_{23}BrN_2O_9 = 634.6$, 636.6 mért: $[M+H]^+ = 635.5$, 637.5.

5-Bróm-*ara*-L-uridin (8)

A **7** brómszármazék (250 mg, 0.39 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) eredményezi a **8** származékot (107 mg, 85 %). Op.: 199-201 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.53, $[\alpha]^{25}_D -50^\circ$ (c

0,25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3380 (OH); 1722 (C=O, laktám); 1670 (C=O); 1431 (C=C, pirimidin váz); 1282, 1118, 1083, 1030 (Ar-Br); 804. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.59 (2H, m, H5'), 3.71 (1H, m, H4'), 3.89 (1H, m, H2'), 4.00 (1H, m, H3'), 5.14 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, OH), 5.44 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, OH), 5.60 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.94 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H1'), 8.05 (1H, s, H6), 11.77 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.9 (C5'), 75.5 (C2'), 75.9 (C3'), 85.3 (C4'), 86.0 (C1'), 94.9 (C5), 142.3 (C6), 150.4 (C2), 159.9 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_6=322.1$, 324.1 mért: $[\text{M}-\text{H}]^-=323.1$, 325.1, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=322.9879, mért: 322.9878.

5-Jód-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (9)

A **4** származékot (1.50 g, 2.70 mmol) 1,2-diklóretánban (100 mL) oldjuk és *N*-jód-szukcinimidet (610 mg, 2.70 mmol) és trifluorecetsavat (2.5 mL, 32.65 mmol) adunk a reakcióelegyhez. Az elegyet három órát kevertetjük 60 °C-on, majd szobahőmérsékletűre hűtve vízzel (2x10 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4), majd bepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, hexán \rightarrow hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a **9** származékot (1.78 g, 97 %). Op.: 209-211 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.49. ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.54 (1H, m, H4'), 4.81, 5.00 (2H, m, H5'), 5.61 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H2'), 5.80 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H3'), 6.52 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H1'), 7.26-8.13 (16H, m, Ph, H6) 8.74 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 63.0 (C5'), 68.0 (C5), 75.6 (C2'), 77.4 (C3'), 81.9 (C4'), 85.1 (C1'), 127.9-134.3 (Ph), 145.7 (C6), 149.6 (C2), 159.5 (C4), 164.8-166.5 (PhCO). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{IN}_2\text{O}_9=682.1$, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=683.0$.

5-Jód-*ara*-L-uridin (10)

A **9** származékból (660 mg, 0.97 mmol) kiindulva a debenzoilezést (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 4:1) nyerjük a **10** származékot (320 mg, 89 %). Op: 214-216 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.54, $[\alpha]_D^{25} -29^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3431 (OH); 1662 (C=O); 1456 (C=C, pirimidin váz), 1372, 1279, 1123, 1063 (Ar-I); 1035, 1020, 617. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.59 (2H, m, H5'), 3.71 (1H, m, H4'), 3.88 (1H, m, H2'), 3.98 (1H, m, H3'), 5.14 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, OH,), 5.46 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, OH), 5.60 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.93 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H1'), 8.07 (1H, s, H6), 11.55 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.9 (C5'), 68.2 (C5), 75.5 (C2'), 75.9 (C3'), 85.2 (C4'), 85.8 (C1'), 147.1 (C6), 150.8 (C2), 161.3 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{IN}_2\text{O}_6=369.9$, mért: $[\text{M}-\text{H}]^-=368.6$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt= 370.9740, mért: 370.9742.

6.6 Az 5-tienil- és az 5-(5-(klór/ bróm/ jód)-tien-2-il)-*ara*-L-uridinek előállítása

5-Tienil-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (11)

A **9** származékból (4.54 g, 6.65 mmol) Stille kapcsolással (6.4 fejezet, módszer A), majd a nyers termék oszlopkromatográfiás tisztításával (40 g szilikagél, hexán→EtOAc) nyerjük a fehér kristályos **11** származékot (2.71 g, 64 %). Op.: 101-103 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.54. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.56 (1H, m, H4'), 4.90, 5.00 (2H, m, H5'), 5.66 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H2'), 5.85 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3'), 6.58 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 7.26-8.11 (15H, m, Ph), 9.26 (1H, s, NH). 7.11-8.13 (18H, m, Ph, H3'', H4'', H5''), 8.67 (1H, s, H6). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 62.8 (C5'), 75.6 (C3'), 76.6 (C2'), 77.02 (C4'), 77.45 (C1'), 109.8 (C5), 123.0, 126.1, 127.2 (C3'', C4'', C5''), 127.8-134.2 (Ph), 135.7 (C2''), 137.6 (C6), 148.8 (C2), 160.5 (C4), 164.8-166.5 (PhCO). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_9\text{S} = 638.1$, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 639.0$.

5-Tienil-*ara*-L-uridin (12)

A **11** származék (250 mg, 0.39 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) kapjuk a **12** származékot (110 mg, 86 %). Op.: 224-226 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.61, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -11^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3411 (OH); 1693 (C=O, laktám); 1473 (C=C, pirimidin váz); 1288 (C=C, tiofén váz); 1066, 1047, 595. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.75 (2H, m, H5'), 3.83 (1H, m, H4'), 4.06 (1H, m, H2'), 4.18 (1H, m, H3'), 5.36 (1H, m, OH), 5.57 (1H, m, OH), 5.75 (1H, m, OH), 6.16 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H1'), 7.11 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H4''), 7.42 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H3''), 7.51 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H5''), 8.35 (1H, s, H6). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 60.4 (C5'), 74.7 (C2'), 76.1 (C3'), 84.6 (C4'), 85.6 (C1'), 107.6 (C5), 123.0 (C3''), 126.1 (C4''), 127.2 (C5''), 134.9 (C2''), 137.8 (C6), 150.1 (C2), 162.0 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{S} = 326.3$, mért: $[\text{M}-\text{H}]^- = 325.0$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=327.0651, mért: 327.0657.

5-(5-Klór-tien-2-il)-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (13)

A **11** származékot (600 mg, 0.94 mmol) piridinben (30 mL) oldjuk, majd hozzáadjuk az NCS reagenst (180 mg, 1.34 mmol) és az elegyet 100 °C-on 5 órát kevertetjük. Bepárlás után a nyers terméket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 2:1) tisztítva izoláljuk a fehér kristályos **13** származékot (570 mg, 90 %). Op.: 89-91 °C, R_f

(hexán:EtOAc, 1:1) 0.61, ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.57 (1H, m, H4'), 4.89, 5.05 (2H, m, H5'), 5.63 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H2'), 5.85 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3'), 6.57 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 6.76 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H6), 7.06-8.13 (17H, m, Ph, H3'', H4''), 8.67 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 62.7 (C5'), 75.4 (C2'), 77.1 (C3'), 82.0 (C1'), 85.0 (C4'), 109.2 (C5), 122.8, 125.5, 127.7 (C3'', C4'', C5''), 128.4-134.1 (Ph, C2''), 135.3 (C6), 148.6 (C2), 160.4 (C4), 164.6-166.4 (PhC=O). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_9$ S=672.1, mért: $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 695.3$.

5-(5-Klór-tien-2-il)-*ara*-L-uridin (14)

A **13** származékból (100 mg, 0.15 mmol) debenzoilezéssel (6.4 fejezet) és oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 9:1) nyerjük a **14** származékot (42 mg, 79 %). Op.: 233-238 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.67, $[\alpha]_D^{25} -3^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3420 (OH); 1696 (C=O, laktám); 1674 (C=O); 1435 (C=C, pirimidin váz); 1288 (C=C, tiofén váz); 1119, 1071 (Ar-Cl). ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.66 (2H, m, H5'), 3.76 (1H, m, H4'), 4.00 (1H, m, H2'), 4.11 (1H, m, H3'), 5.40 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, OH,), 5.53 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, OH), 5.70 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, OH), 6.22 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H1'), 6.89 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H3''), 7.19 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H4''), 8.44 (1H, s, H6), 11.81 (1H, s, NH). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 61.9 (C5'), 76.6 (C2'), 77.5 (C3'), 85.9 (C4'), 87.4 (C1'), 108.9 (C5), 122.9 (C3''), 126.7 (C4''), 130.6 (C5''), 134.5 (C2''), 138.7 (C6), 151.4 (C2), 163.6 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_6\text{S}$ =360.0, mért: $[\text{M}-\text{H}]^- = 359.0$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=361.0261, mért: 361.0262.

5-(5-Bróm-tien-2-il)-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (15)

A diklórmétánban (50 mL) oldott **11** származékhoz (500 mg, 0.78 mmol) az elemi bróm (48 μL , 0.94 mmol) szénterrakloridos (10 mL) oldatát csepegtetjük 10 perc alatt jégthűtés közben. Tizenöt perc kevertetés után a reakcióelegyet telített NaHCO_3 oldattal (2x30 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4), majd bepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (50 g szilikagél, hexán \rightarrow hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a **15** származékot (520 mg, 92 %). Op.: 91-93 °C, R_f (hexán:EtOAc=1:1) 0.62, ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.57 (1H, m, H4'), 4.87, 5.05 (2H, m, H5'), 5.63 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H2'), 5.85 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3'), 6.57 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 6.89 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H6), 7.04-8.13 (17H, m, Ph, H3'', H4''), 8.72 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 62.7 (C5'), 75.4 (C2'), 77.1 (C3'), 82.0 (C1'), 85.0 (C4'), 109.2 (C5), 113.2 (C5''), 123.7 (C3''), 127.7-134.1 (Ph, C2''), 135.4 (C6), 148.6 (C2), 160.4 (C4) 164.6-166.4 (PhC=O). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_9\text{S}$ =716.4, 718.4 mért: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 717.4, 719.4$.

5-(5-Bróm-tien-2-il)-*ara*-L-uridin (16)

A **15** származék (170 mg, 0.24 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) és a nyerste-termék oszlopkromatográfiás tisztítása (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) szolgáltatja a fehér kristályos **16** származékot (85 mg, 89 %). Op.: 210-211 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.67, $[\alpha]_D^{25} -3^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3401 (OH); 1694 (C=O, laktám); 1474 (C=C, pirimidin váz); 1432, 1288 (C=C, tiofén váz); 1122, 1058 (Ar-Br); 794. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.69 (2H, m, H5'), 3.76 (1H, m, H4'), 3.99 (1H, m, H2'), 4.12 (1H, m, H3'), 5.36 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, OH), 5.48 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, OH), 5.67 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, OH), 6.08 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H1'), 7.16 (2H, m, H3'', H4''), 8.39 (1H, s, H6), 11.78 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.3 (C5'), 74.6 (C2'), 76.2 (C3'), 84.6 (C4'), 85.7 (C1'), 107.0 (C5), 111.7 (C5''), 122.4 (C3''), 130.0 (C4''), 136.5 (C2''), 137.7 (C6), 149.9 (C2), 162.1 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}=404.0$, mért: $[\text{M}-\text{H}]^-=404.9$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=404.9756, mért: 404.9755.

5-(5-Jód-tien-2-il)-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-uridin (17)

A **11** vegyület (200 mg, 0.31 mmol) 1,2-diklóretános (10 mL) oldatához hozzáadjuk a NIS reagenst (85 mg, 0.37 mmol) majd a trifluorecetsavat (6.53 mmol, 0.5 mL) és a reakcióelegyet 70 °C-on 2 órát kevertetjük. A szobahőmérsékletre hűlt elegyet telített NaHCO_3 oldattal (2×10 mL) majd vízzel (2×10 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4), majd szárazra pároljuk. A nyerste-terméket szilikagél kromatográfiával (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a **17** származékot (230 mg, 97 %). Op.: 107-109 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.54. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.58 (1H, m, H4'), 4.87, 5.04 (2H, m, H5'), 5.67 (1H, d, $J = 2.9$ Hz H2'), 5.88 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3'), 6.57 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H1'), 6.97 (1H, s, H6), 7.04-8.18 (17H, m, Ph, H3'', H4''), 8.06 (1H, s, H6), 8.83 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 63.5 (C5'), 75.7 (C2'), 77.5 (C3'), 79.3 (C5''), 81.5 (C1'), 85.3 (C4'), 108.4 (C5), 125.3-134.3 (Ph, C3'', C4'') 136.5 (C6), 144.0 (C2''), 149.0 (C2), 160.5 (C4), 164.9-166.6 (PhC=O). ESI MS m/z számolt: $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{IN}_2\text{O}_9\text{S}=764.2$, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=765.1$.

5-(5-Jód-tien-2-il)-*ara*-L-uridin (18)

A **17** származékból (200 mg, 0.26 mmol) debenzoilezéssel (6.4 fejezet), majd oszlopkromatográfiával (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) nyerjük a **18** származékot (60 mg, 50 %). Op.: 162-164 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.73, $[\alpha]_D^{25} -19^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3418 (OH); 2927, 1699 (C=O, laktám); 1458 (C=C, pirimidin gyűrű vázrezgés);

1419, 1280 (C=C, tiofén vázrezgés); 1117, 1050 (Ar-I). ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.59 (2H, m, H5'), 3.77 (1H, m, H4'), 3.94 (1H, m, H2'), 3.99 (1H, m, H3'), 4.95 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.44 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, OH), 5.59 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, OH), 6.02 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H1'), 7.33 (2H, bs, H3'', H4''), 8.06 (1H, s, H6), 11.72 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.9 (C5'), 75.1 (C2'), 75.6 (C3'), 79.3 (C5''), 82.0 (C4''), 85.3 (C4'), 85.8 (C1'), 105.7 (C5), 139.1 (C6), 142.0 (C3''), 143.3 (C2''), 149.5 (C2), 161.3 (C4). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{IN}_2\text{O}_6\text{S} = 452.2$, mért: $[\text{M}-\text{H}]^- = 451.2$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=452.9617, mért: 452.9616.

6.7 Az 5-(klór/ bróm/ jód)- *ara*-L-citidinek előállítása

2',3',5'-Tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (19)

A **4** vegyületet (1.00 g, 1.80 mmol) a 6.4 fejezetben leírt módon 4-(1,2,4-triazol-1-il) származékon keresztül 2',3',5'-Tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidinné alakítjuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 9:1) tisztítva izoláljuk a **19** származékot (700 mg, 70 %). Op.: 109-112 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.19. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.52 (1H, m, H4'), 4.83 (2H, m, H5'), 5.59 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H5), 5.72 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H2'), 5.91 (1H, dd, $J = 3.6$ Hz, H3'), 6.53 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 7.26-8.11 (18H, m, Ph, H6, NH_2). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 63.5 (C5'), 75.3 (C2'), 76.6 (C3'), 81.3 (C4'), 85.9 (C1'), 94.1 (C5), 128.4-133.9 (Ph), 141.9 (C6), 155.2 (C2), 164.5 (C4), 165.5-166.3 (PhC=O). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_8 = 555.2$, mért: $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 578.2$.

ara-L-Citidin (20)

A **19** származék (80 mg, 0.14 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (20 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 2:1) szolgáltatja a fehér kristályos **20** származékot (30 mg, 86 %). Op.: 213-216 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.12, $[\alpha]_D^{25} -137^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR ν/cm^{-1} (KBr) 3441 (OH); 3358 (NH_2); 1659 (C=O); 1581, 1479 (C=C, pirimidin váz); 1280, 1112, 1071, 798. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.56 (2H, m, H5'), 3.71 (1H, m, H4'), 3.86 (1H, m, H2'), 3.92 (1H, m, H3'), 5.36 (3H, bs, OH), 5.64 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H5), 6.01 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H1'), 7.00 (2H, d, NH_2), 7.55 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H6). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 61.8 (C5'), 75.4 (C2'), 77.0 (C3'), 85.5 (C4'), 86.5 (C1'), 93.0 (C5), 143.6 (C6), 155.9 (C2), 166.3 (C4). ESI MS m/z számolt: $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_5 = 243.1$, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 244.3$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=244.0933, mért: 244.0932.

5-Klór-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (21)

A **19** vegyület (300 mg, 0.54 mmol) piridines (20 mL) oldatához NCS reagenst (144 mg, 1.1 mmol) adunk, majd a reakcióelegyet 70 °C-on két órán át kevertetjük. Az elegyet ezután bepároljuk, a bepárlási maradékot diklórmetánban (50 mL) oldjuk és vízzel (2x20 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na₂SO₄) és bepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva kapjuk a **21** terméket (300 mg, 94 %). Op.: 161-164 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.92. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.53 (1H, m, H4'), 4.83 (2H, m, H5'), 5.63 (1H, m, H5), 5.69 (1H, m, H2'), 5.85 (1H, m, H3'), 6.45 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H1'), 7.23-8.10 (16H, m, Ph, H6), 8.38 (2H, s, NH₂). ¹³C NMR (CDCl₃) δ: 63.4 (C5'), 75.8 (C2'), 77.3 (C3'), 81.2 (C4'), 84.9 (C1'), 99.7 (C5), 128.3-134.3 (Ph), 148.1 (C6), 156.0 (C2), 165.0 (C4), 165.6-166.4 (PhCO). ESI MS *m/z* számolt C₃₀H₂₄ClN₃O₈ = 589.1, mért: [M+H]⁺ = 590.2.

5-Klór-*ara*-L-citidin (22)

A **21** származék (130 mg, 0.22 mmol) debenzoilezése (6.4 fejezet) majd oszlopkromatográfiás tisztítása (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) szolgáltatja a **22** származékot fehér kristályos anyag formájában (50 mg, 82 %). Op.: 128-129 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.69, [α]_D²⁵ -124 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm⁻¹ (KBr) 3343 (OH, NH₂), 2839, 2677, 2491, 1644 (C=O); 1596, 1501, 1434 (C=C, pirimidin váz); 1331, 1284, 1121, 1076 (Ar-Cl); 1037. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.59 (2H, m, H5'), 3.79 (1H, m, H4'), 3.91 (1H, m, H2'), 4.03 (1H, m, H3'), 5.07 (1H, bs, OH), 5.52 (1H, bs, OH), 5.61 (1H, bs, OH), 6.00 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, H1'), 7.93 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H6), 8.42, 9.33 (2H, 2s, NH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 61.4 (C5'), 75.6 (C2'), 76.1 (C3'), 86.4 (C4'), 87.1 (C1'), 93.2 (C5), 146.3 (C6), 148.8 (C2), 161.7 (C4). ESI MS *m/z* számolt: C₉H₁₃ClN₃O₅ = 277.0, mért: [M+H]⁺ = 278.0, HRMS-ESI [M+H]⁺ *m/z* számolt: 278.0544, mért: 278.0545.

5-Bróm-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (23)

A **19** vegyület (180 mg, 0.32 mmol) piridines (20 mL) oldatához hozzáadjuk az NBS reagenst (180 mg, 0.97 mmol) és az oldatot 50 °C-on 4 órát kevertetjük majd szárazra pároljuk. A bepárlási maradékot diklórmetánban (50 mL) oldjuk és vízzel (3x20 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na₂SO₄) majd szárazra pároljuk. A kapott nyersterméket szilikagél kromatográfiával (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) tisztítva nyerjük a **23** vegyületet (170 mg, 82 %). Op.: 118-120 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.39. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.53 (1H, m, H4'), 4.77-5.00 (2H, m, H5'), 5.67 (1H, bs, H2'), 5.86 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H3'), 6.57 (1H,

d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 7.26-8.11 (18H, m, Ph, H6, NH₂). ¹³C NMR (CDCl₃) δ : 63.1 (C5'), 75.1 (C2'), 76.6 (C3'), 81.9 (C4'), 85.8 (C1'), 97.3 (C5), 128.2-134.0 (Ph), 142.6 (C6), 153.9 (C2), 162.1 (C4), 164.4-166.3 (PhC=O). ESI MS m/z számolt C₃₀H₂₄BrN₃O₈ = 633.1, 635.1, mért: [M+H]⁺ = 634.3, 636.3.

5-Bróm-*ara*-L-citidin (24)

A **23** származék (280 mg, 0.44 mmol) debenzoilezésével (6.4 fejezet) majd oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) izoláljuk a **24** származékot fehér por formájában (130 mg, 91 %). Op.: 207-210 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.37, $[\alpha]^{25}_D -108^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3347 (OH, NH₂); 1648 (C=O); 1601, 1506 (C=C, pirimidin váz); 1330, 1281, 1121, 1086, 1054 (Ar-Br). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 3.57 (2H, m, H5'), 3.73 (1H, m, H4'), 3.89 (1H, m, H2'), 3.94 (1H, m, H3'), 5.15 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.48 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, OH), 5.51 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, OH), 5.98 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H1'), 6.97-7.75 (2H, d, NH₂), 7.88 (1H, s, H6), ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 60.6 (C5'), 74.7 (C2'), 75.7 (C3'), 84.8 (C4'), 84.8 (C5), 85.8 (C1'), 143.3 (C6), 153.6 (C2), 161.7 (C4). ESI MS m/z számolt: C₉H₁₂BrN₃O₅ = 321.0, 323.0, mért: [M-H]⁻ = 319.8, 321.9, HRMS-ESI [M+H]⁺ m/z számolt = 322.0039, mért: 322.0037.

5-Jód-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (25)

A **19** vegyület (430 mg, 0.77 mmol) jódozzuk (6.4 fejezet) majd a kapott nyerste-terméket szilikagél kromatográfiával (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) tisztítva nyerjük a **25** származékot (404 mg, 77 %). Op.: 118-120 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.44. ¹H NMR (CDCl₃) δ : 4.53 (1H, m, H4'), 4.77-5.01 (2H, m, H5'), 5.56 (1H, m, H2'), 5.84 (1H, m, H3'), 6.59 (1H, m, H1'), 7.26-8.15 (18H, m, Ph, H6, NH₂). ¹³C NMR (CDCl₃) δ : 55.9 (C5), 63.0 (C5'), 75.1 (C2'), 77.0 (C3'), 82.0 (C4'), 85.7 (C1'), 128.3-134.0 (Ph), 148.2 (C6), 154.1 (C2), 163.6 (C4), 164.4-166.3 (PhC=O). ESI MS m/z számolt (C₃₀H₂₄IN₃O₈) = 681.1, mért: [M+H]⁺ = 682.2.

5-Jód-*ara*-L-citidin (26)

A **25** származék (400 mg, 0.59 mmol) debenzoilezése (6.4 fejezet) és oszlopkromatográfiás tisztítása (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) után nyerjük a fehér kristályos **26** származékot (190 mg, 86 %). Op.: 210-212 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.38, $[\alpha]^{25}_D -36^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3431, 3335 (OH, NH₂); 1655 (C=O); 1632, 1609, 1504, 1481 (C=C, pirimidin váz); 1293, 1113, 1073, 1056 (Ar-I); 1022, 653. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 3.57 (2H, m, H5'), 3.72 (1H, m, H4'), 3.87 (1H, m, H2'), 3.94 (1H, m, H3'), 5.10 (1H, d, $J = 2.1$

Hz, OH), 5.40 (1H, m, OH), 5.45 (1H, m, OH), 5.98 (1H, d, H1'), 6.53-7.72 (2H, d, NH₂), 7.93 (1H, s, H₆). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 55.1 (C5), 60.7 (C5'), 74.8 (C2'), 75.8 (C3'), 84.8 (C4'), 85.8 (C1'), 148.8 (C6), 153.9 (C2), 163.6 (C4). ESI MS *m/z* számolt (C₉H₁₂IN₃O₅)=369.0, mért: [M+H]⁺=370.1, HRMS-ESI [M+H]⁺ *m/z* számolt= 369.9900, mért: 369.9901.

6.8 Az 5-(2-tienil)- és az 5-(5-(klór/bróm/ jód)-tien-2-il)-*ara*-L-citidinek előállítása

5-Tienil-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (27)

A **11** uridin származékot (1.60 g, 2.51 mmol) 4-(1,2,4-triazol-1-il)-uridin származékon keresztül 5-Tienil-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidinné alakítjuk. A nyerste termék oszlopkromatográfiás tisztításával (40 g szilikagél, hexán→hexan:EtOAc, 1:1) izoláljuk a **27** származékot (920 mg, 57 %). Op.: 112-115 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1) 0.45. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.51 (1H, m, H4'), 4.85 (2H, m, H5'), 5.58 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H2'), 5.88 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H3'), 6.62 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H1'), 6.85-8.12 (21H, m, Ph, H3'', H4'', H5'', H6, NH₂). ¹³C NMR (CDCl₃) δ: 63.0 (C5'), 75.4 (C3'), 77.6 (C2'), 81.7 (C4'), 85.6 (C1'), 101.3 (C5), 127.0-133.9 (C2'', C3'', C4'', C5'', Ph), 141.7 (C6), 154.1 (C2), 164.2 (C4), 164.4-166.2 (PhCO). ESI MS *m/z* számolt (C₃₄H₂₇N₃O₈S)=637.1, mért: [M+H]⁺= 638.4.

5-Tienil-*ara*-L-citidin (28)

A **27** származék (87 mg, 0.14 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 4:1) szolgáltatja fehér kristályos anyag formájában a **28** származékot (36 mg, 81 %). Op.: 163-165 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.39, [α]²⁵_D -47 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm⁻¹ (KBr) 3442 (OH); 3346 (NH₂); 1653 (C=O); 1628, 1506, 1471 (C=C, pirimidin váz); 1102, 1058 ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.56 (2H, m, H5'), 3.73 (1H, m, H4'), 3.88 (1H, m, H2'), 3.97 (1H, m, H3'), 5.02 (1H, bs, OH), 5.42 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, OH), 5.49 (1H, d, *J* = 5.7 Hz, OH), 6.06 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H1'), 7.08 (1H, d, *J* = 3.8 Hz, H4''), 7.12 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H3''), 7.54 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H5''), 7.70 (1H, s, H₆), 7.85 (2H, m, NH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 61.5 (C5'), 75.6 (C2'), 76.7 (C3'), 85.5 (C4'), 86.4 (C1'), 99.9 (C5), 126.7 (C3''), 127.6 (C4''), 128.8 (C5''), 128.9 (C-2''), 143.3 (C6), 154.7 (C2), 163.7 (C4). ESI MS *m/z* számolt (C₁₃H₁₅N₃O₅S)=325.3, mért: [M+H]⁺= 326.0, HRMS-ESI [M+H]⁺ *m/z* számolt=326.0811, mért: 326.0811.

5-(5-Klór-tien-2-il)-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (29)

A **27** származék (350 mg, 0.55 mmol) piridines (20 mL) oldatához hozzáadjuk az NCS reagent (100 mg, 0.75 mmol) és az elegyet 70 °C-on 20 percig kevertetjük majd bepároljuk. A bepárlási maradékot diklórmetánban (50 mL) oldjuk és vízzel (2x30 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na₂SO₄), majd bepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (40 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a **29** származékot (300 mg, 81 %). Op.: 93-95 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1) 0.89. ¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.53 (1H, m, H4'), 4.91 (2H, m, H5'), 5.64 (1H, t, *J* = 4.5 Hz, H2'), 5.83 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H3'), 6.52 (1H, t, *J* = 4.5 Hz, H1'), 6.90-8.61 (20H, m, Ph, H4'', H5'', H6, NH₂). ¹³C NMR (CDCl₃) δ: 62.8 (C5'), 75.8 (C3'), 77.2 (C2'), 81.6 (C4'), 84.5 (C1'), 107.7 (C5), 124.6-134.0 (C2'', C3'', C4'', C5'', Ph), 147.2 (C6), 153.8 (C2), 159.0 (C4), 164.8-166.2 (PhCO). ESI MS *m/z* számolt C₃₄H₂₆ClN₃O₈S=671.1, mért: [M+H]⁺= 672.1.

5-(5-Klór-tien-2-il)-*ara*-L-citidin (30)

A **29** származék (100 mg, 0.15 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) után fehér kristályos anyag formájában izoláljuk a **30** származékot (42 mg, 79 %). Op.: 115-117 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.57, [α]_D²⁵ -40° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm⁻¹ (KBr) 3419 (OH, NH₂); 2929, 2360, 1699 (C=O); 1636, 1458 (C=C, pirimidin váz); 1281 (C=C, tiofén váz); 1121, 1072 (Ar-Cl) ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.56 (2H, m, H5'), 3.77 (1H, m, H4'), 3.89 (1H, m, H2'), 4.09 (1H, m, H3'), 5.30-5.85 (2H, bs, 2OH), 5.55 (1H, s, OH), 6.02 (1H, d, *J* = 4.5 Hz, H1'), 7.03 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H4''), 7.11 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H3''), 8.10 (1H, s, H6), 8.60-9.05 (2H, d, NH₂). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 59.9 (C5'), 74.3 (C2'), 75.2 (C3'), 85.0 (C4'), 86.1 (C1'), 98.8 (C5), 127.8-129.6 (C3'', C4'', C5''), 129.8 (C2''), 145.3 (C6), 147.3 (C2), 159.3 (C4). ESI MS *m/z* számolt: C₁₃H₁₄ClN₃O₅S=359.0, mért: [M+H]⁺=360.1, HRMS-ESI [M+H]⁺ *m/z* számolt= 360.0421, mért: 360.0420.

5-(5-Bróm-tien-2-il)-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-*ara*-L-citidin (31)

A **27** származék (350 mg, 0.55 mmol) kloroformos (20 mL) oldatához jeges vizes hűtés mellett hozzácsepegtetjük a Br₂ (60 μL, 1.10 mmol) széntetrakloridos oldatát (10 mL) intenzív kevertetés közben. A beadagolást követő 15 perc kevertetés után az elegyet vízzel (2x30 mL) mossuk, majd a szerves fázist szárítás (Na₂SO₄) után bepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a sárga porszerű **31** származékot (360 mg, 91 %). Op.: 120-122 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1)

0.46. ^1H NMR (CDCl_3) δ : 4.52 (1H, m, H4'), 4.87 (2H, m, H5'), 5.58 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H2'), 5.88 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3'), 6.56 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 6.60-8.11 (20H, m, Ph, H3'', H4'', H6, NH₂). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 63.1 (C5'), 75.5 (C2'), 77.4 (C3'), 81.9 (C4'), 85.8 (C1'), 100.8 (C5), 128.6-135.0 (Ph, C2'', C3'', C4'', C5''), 142.0 (C6), 144.0 (C2), 154.3 (C4), 163.4-166.5 (PhCO). ESI MS m/z számolt $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{BrN}_3\text{O}_8\text{S} = 715.1$, 717.1 mért: $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 738.3$, 740.3.

5-(5-Bróm-tien-2-il)-ara-L-citidin (32)

A **31** származék (170 mg, 0.24 mmol) debenzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (20 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 4:1) után nyerjük fehér kristályos anyag formájában a **32** származékot (75 mg, 78 %). Op.: 163-165 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.41, $[\alpha]_D^{25} -26^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3445 (OH); 3343 (NH₂); 1658 (C=O); 1629, 1578, 1508, 1473 (C=C, pirimidin váz); 1291 (C=C, tiofén váz); 1103, 1068, 1054 (Ar-Br); 1007. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 3.55 (2H, m, H5'), 3.73 (1H, m, H4'), 3.89 (1H, m, H2'), 3.98 (1H, m, H3'), 5.05 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, OH), 5.41 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, OH), 5.47 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, OH), 6.05 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H1'), 6.70 (2H, bs, NH₂), 6.90 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H4''), 7.21 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3''), 7.70 (1H, s, H6), ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 66.1 (C5'), 80.4 (C2'), 81.2 (C3'), 90.2 (C4'), 91.2 (C1'), 103.8 (C5), 116.1 (C5''), 133.7 (C3''), 136.6 (C4''), 142.2 (C2''), 148.5 (C6), 159.5 (C2), 168.5 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_5\text{S}$) = 403.0, mért: $[\text{M}-\text{H}]^- = 402.0$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=403.9916, mért: 403.9916.

5-(5-Jód-tien-2-il)-2',3',5'-tri-O-benzoil-ara-L-citidin (33)

A **27** származék (300 mg, 0.47 mmol) 1,2-diklórmétános (20 mL) oldatához adjuk a NIS reagenst (127 mg, 0.56 mmol) majd a trifluorecetsavat (6.53 mmol, 0.5 mL) és a reakcióelegyet 60 °C -on két órát kevertetjük, majd szobahőmérsékletre hűtve vízzel (2 \times 10 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4) és az oldószert lepároljuk. A **33** származékot (220 mg, 61 %) oszlopkromatográfiás tisztítással (40 g szilikagél, EtOAc) izoláljuk. Op.: 133-135 °C, R_f (EtOAc:MeOH, 19:1) 0.58. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 4.52 (1H, m, H4'), 4.87 (2H, m, H5'), 5.57 (1H, m, H2'), 5.87 (1H, m, H3'), 6.49 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H1'), 6.40-8.20 (20H, m, Ph, H3'', H4'', H6, NH₂). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 63.0 (C5'), 74.7 (C5''), 75.5 (C2'), 77.7 (C3'), 81.9 (C4'), 85.8 (C1'), 100.7 (C5), 128.5-139.5 (C3'', C4'', C2'', Ph), 142.1 (C6), 154.3 (C2), 163.8 (C4), 164.5-166.4 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{IN}_3\text{O}_8\text{S}$)=763.1, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 764.2$.

5-(5-Jód-tien-2-il)-*ara*-L-citidin (34)

A **33** származékából (393 mg, 0.51 mmol) a védőcsoportok eltávolításával (6.4 fejezet) és oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) nyerjük a fehér kristályos **34** származékot (90 mg, 39 %). Op.: 199-201 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.45, $[\alpha]_D^{25}$ -11 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3447 (OH); 3347 (NH₂); 2933, 1656 (C=O); 1633, 1578, 1472 (C=C, pirimidin váz); 1290 (C=C, tiofén váz); 1102, 1067 (Ar-I); 1053. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 3.55 (2H, m, H5'), 3.71 (1H, m, H4'), 3.90 (1H, m, H2'), 3.98 (1H, m, H3'), 5.00-5.80 (3H, bs, OH), 6.05 (1H, d, J = 4.2 Hz, H1'), 6.40-7.50 (2H, bs, NH₂), 6.78 (1H, d, J = 3.6 Hz, H4''), 7.30 (1H, d, J = 3.6 Hz, H3''), 7.68 (1H, s, H6). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 60.7 (C5'), 67.4 (C5''), 75.0 (C2'), 75.7 (C3'), 84.6 (C4'), 85.6 (C1'), 98.5 (C5), 127.0 (C3''), 129.0 (C4''), 137.6 (C2''), 140.7 (C6), 154.1 (C2), 162.9 (C4). ESI MS m/z számolt: (C₁₃H₁₄IN₃O₅S)=451.2, mért: [M+H]⁺=452.1, HRMS-ESI [M+Na]⁺ m/z Számolt=473.9597, mért: 473.9594.

6.9 A bázismódosított 2,2'-anhidro-L-uridinek előállítása

2,2'-Anhidro-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (35)

A **2** vegyület (10.00 g, 44.20 mmol) absz. piridines (150 mL) szuszpenziójához jeges vizes hűtés mellett benzoil-kloridot (11.4 mL, 98.00 mmol) csepegtetünk és a reakcióelegyet szobahőmérsékleten három napig kevertetjük. A kivált fehér csapadékot (24.30 g) kiszűrjük, etanollal (3x20 mL) mossuk majd szárítjuk. A **35** termék fehér kristályos anyag (17.00 g, 90 %). Op.: 266-268 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1) 0.22, ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 4.25-4.40 (2H, m, H5'), 4.71 (1H, m, H3'), 5.60 (1H, d, J = 6.0 Hz, H2'), 5.66 (1H, m, H4'), 6.40 (1H, d, J = 5.1 Hz, H1'), 7.33-7.76 (12 H, m, Ph, H5, H6). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 62.4 (C5'), 77.5 (C3'), 83.1 (C4'), 85.9 (C2'), 89.9 (C1'), 109.5 (C5), 128.0-132.9 (Ph), 133.5 (C2), 160.7-165.1 (PhCO, C4, C6). ESI MS m/z számolt (C₂₃H₁₈N₂O₇)=434.4, mért: [M+H]⁺ = 435.4.

5-Jód-2,2'-anhidro-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (36)

A **35** származék (2.00 g, 4.6 mmol) 6.4 fejezetben leírt jódozásával előállított nyersteget oszlopkromatográfiával tisztítva (50 g szilikagél DCM→DCM:MeOH, 19:1) nyerjük a **36** származékot (2.00 mg, 78 %). Op.: 103-106 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1) 0.51. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 4.54-4.63 (2H, m, H5'), 4.72 (1H, m, H3'), 4.76 (1H, m, H2'), 5.45 (1H, t, J = 4.8 Hz, H4'), 6.03 (1H, d, J = 5.1 Hz, H1'), 7.24 (1H, s, H6), 7.28-8.13 (10H, m, Ph). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 63.5 (C5'), 69.6 (C3'), 72.4 (C5), 74.2 (C4'), 80.7 (C2'), 89.9 (C1'),

128.5-133.8 (Ph), 150.6 (C2), 160.0 (C4), 165.8 (C6), 165.9-166.3 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($C_{23}H_{17}N_2O_7$) = 560.3, mért: $[M+H]^+ = 561.2$.

5-Jód-2,2'-anhidro-L-uridin (37)

A **36** származékból (2.00 g, 3.6 mmol) debenzoilezés (6.4 fejezet) után oszlopkromatográfiás tisztítással (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) izoláljuk a **37** terméket (812 mg, 64%). Op.: 164-168 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.20, $[\alpha]^{25}_D +15^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3429 (OH); 3064, 2928, 2360, 1699 (C=O, laktám); 1615, 1447 (C=C, pirimidin váz); 1274, 1102, 1053 (Ar-I). 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.60 (2H, m, H5'), 3.84 (1H, m, H3'), 3.95 (1H, m, H4'), 4.00 (1H, m, H2'), 5.03 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, OH), 5.22 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, OH), 5.37 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, OH), 5.70 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H5), 6.35 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H1'), 8.45 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H6). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.1 (C5'), 69.2 (C3'), 69.2 (C5), 73.9 (C2'), 84.7 (C4'), 88.3 (C1'), 145.1 (C2), 150.3 (C4), 160.4 (C6). ESI MS m/z számolt ($C_9H_9N_2O_5$)=352.1, mért: $[M+H]^+ = 353.2$, HRMS-ESI $[M+H]^+ m/z$ számolt=352.9635, mért: 352.9634.

5-Tienil-2,2'-anhidro-3',5'-di-O-benzoil-L-uridin (38)

A **36** jódszármazékkal 650 mg (1.01 mmol) a 6.4 fejezetben leírt Stille kapcsolást DMF oldószerben (módszer A) végezve a **38** tienil-származékot (370 mg, 61 %) oszlopkromatográfiás (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítás után nyerjük. Op.: 132-135 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1) 0.49. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.37 (2H, m, H5'), 4.79 (1H, m, H3'), 5.70 (1H, t, $J = 5.7$ Hz, H2'), 5.72 (1H, t, $J = 6.3$ Hz, H4'), 6.55 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H1'), 6.99-8.02 (14H, m, Ph, H6, H3'', H4'', H5''). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 62.5 (C5'), 77.2 (C3'), 83.2 (C4'), 86.2 (C2'), 90.6 (C1'), 115.5 (C5), 123.9-133.6 (Ph, C2'', C3'', C4'', C5''), 133.9 (C2), 157.7 (C4), 164.7-165.1 (PhCO), 168.4 (C6). ESI MS m/z számolt ($C_{27}H_{20}N_2O_7S$)=516.5, mért: $[M+H]^+ = 517.3$.

5-Tienil-2,2'-anhidro-L-uridin (39)

A **38** származékból (380 mg, 0.74 mmol) a benzoil védőcsoportok eltávolítása után (6.4 fejezet) oszlopkromatográfiás tisztítással (40 g szilikagél DCM→DCM:MeOH, 9:1) izoláljuk a **39** terméket (200 mg, 88 %). Op.: 245-248 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.18, $[\alpha]^{25}_D -5^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3424 (OH); 2928 (NH); 2858, 1728, (C=O, laktám); 1465 (C=C, pirimidin váz); 1287 (C=C, tiofén váz), 1121, 1072, 541. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.46 (2H, m, H5'), 3.88 (1H, m, H3'), 4.09 (1H, m, H4'), 4.57 (1H, m, H2'), 5.38 (1H, d, $J = 5.7$

Hz, OH), 5.72 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, OH), 6.55 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H1'), 7.05-8.67 (14H, m, Ph, H6, H3'', H4'', H5''). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 61.3 (C5'), 76.2 (C3'), 83.4 (C4'), 86.7 (C2'), 89.9 (C1'), 109.7 (C5), 123.1-132.0 (Ph, C2'', C3'', C4'', C5''), 150.3 (C2), 161.8 (C4), 164.7-165.1 (PhCO, C6). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$)=308.3, mért: $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ =342.7, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=309.0467, mért: 309.0466.

6.10 A bázismódosított L-uridinek előállítása

A 2',5'- és 3'5'-dibenzoil-L-uridin (40)

A **35** származék (5.50 g, 12.67 mmol) absz. metanolos (200 mL) szuszpenziójához hozzáadjuk a bórtrifluorid-éterátot (6 mL, 48.6 mmol) és a reakcióelegyet 2 órán át refluxoltatjuk. A kapott áttetsző reakcióelegy térfogatát tizedére pároljuk, majd DCM (200 mL) hozzáadása után telített NaHCO_3 oldattal (3x50 mL) és telített NaCl oldattal (3x50 mL) mossuk. Az egyesített vizes fázisokat diklórmetánnal (3x50 mL) újra extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat szárítjuk (Na_2SO_4) majd az oldószert lepárolva nyerjük a **40** termékek elegyét (5.70 g, 99 %). Op.: 165-168 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.50 és 0.58, ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_8$)=452.4, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 453,3.

L-uridin (41)

A **40** származékból (200 mg, 0.44 mmol) a benzoil védőcsoportok Zemplén-debenzoilezése (6.4 fejezet) után kromatográfiás tisztítással (40 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 9:1) nyertük a **41** L-uridint (84 mg, 77 %). Op.: 166-167 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.39, $[\alpha]_D^{25} +6^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3370 (OH); 3114 (NH); 2925, 1681 (C=O, laktám); 1470, 1397 (C=C, pirimidin váz); 1269, 1097, 1053, 766. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.50-3.62 (2H, m, H5'), 3.81 (1H, m, H3'), 3.91 (1H, m, H4'), 5.06 (1H, m, H2'), 5.13 (1H, m, OH), 5.34 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, OH), 5.45 (1H, m, OH), 5.62 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H5), 5.75 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H1'), 7.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H6), 11.28 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.9 (C2'), 69.9 (C5'), 73.6 (C3'), 84.9 (C4'), 87.7 (C1'), 101.8 (C5), 140.8 (C6), 150.8 (C2), 163.2 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$)=244.2, mért: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ =267.3, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=245.0775, mért: 245.0774.

2',3',5'-Tri-O-benzoil-L-uridin (42)

A **41** vegyület (2.00 g, 4.42 mmol) benzoilezésével (6.4 fejezet) kapott nyersterméket kromatográfiával (100 g szilikagél hexán \rightarrow hexán:EtOAc, 1:1) tisztítva nyerjük a fehér színű kristályos **42** vegyületet (2.00 g, 81 %). Op.: 139-141 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.36. ^1H

NMR (DMSO-*d*₆) δ : 4.66-4.77 (2H, m, H5'), 4.83 (1H, m, H3'), 5.60 (1H, m, H2'), 5.75 (1H, m, H4'), 5.88 (1H, d, J = 5.7 Hz, H5), 6.32 (1H, d, J = 5.4 Hz, H1'), 7.26-8.11 (16H, m, H6, Ph), 8.50 (1H, s, NH). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 63.9 (C5'), 71.4 (C2'), 73.9 (C3'), 80.8 (C4'), 88.3 (C1'), 103.6 (C5), 128.6-134.2 (Ph), 139.7 (C6), 150.1 (C2), 162.5 (C4), 165.6-166.3 (PhCO). ESI MS m/z számolt (C₃₄H₂₆N₂O₉)=556, mért: [M+H]⁺= 557.1.

5-Jód-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-L-uridin (43)

A **42** származék (1.65 g, 2.96 mmol) jódozását a 6.4 fejezetben leírt módon végezve oszlopkromatográfiás (90 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) tisztítás után izoláljuk a **43** származékot (1.93 g, 96 %). Op.: 112-115 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.60. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 4.73 (2H, m, H5'), 4.81 (1H, m, H3'), 5.76 (1H, t, J = 6.0 Hz, H2'), 5.90 (1H, m, H4'), 6.35 (1H, d, J = 6.0 Hz, H1'), 7.26-8.14 (16H, m, Ph, H6), 9.07 (1H, s, NH). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 64.1 (C5'), 70.0 (C5), 71.6 (C3'), 74.1 (C2'), 81.2 (C4'), 87.9 (C1'), 128.5-134.1 (Ph), 144.2 (C6), 150.1 (C2), 159.8 (C4), 165.5-166.3 (PhCO). ESI MS m/z számolt (C₃₀H₂₃IN₂O₉)=682.4, mért: [M+Na]⁺=705.2.

5-Jód-L-uridin (44)

A **43** származékból (400 mg, 0.59 mmol) a benzoil védőcsoportok eltávolítása (6.4 fejezet) után oszlopkromatográfiás tisztítással (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) izoláljuk a **44** vegyületet (180 mg, 89 %) fehér kristályos anyag formájában. Op.: 195-198 °C (bomlik), R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.41. [α]_D²⁵ +29 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3427 (OH); 3064 (NH); 2926, 1683 (C=O, laktám); 1456 (C=C, pirimidin váz); 1385, 1275, 1113, 1037 (Ar-I). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 3.52-3.68 (2H, m, H5'), 3.85 (1H, m, H3'), 3.91 (1H, m, H4'), 5.06 (1H, m, H2'), 5.10, 5.23, 5.41 (3H, s, OH), 5.70 (1H, d, J = 4.5 Hz, H1'), 8.45 (1H, s, H6), 11.28 (1H, bs, NH). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ : 60.9 (C2'), 69.9 (C5'), 70.1 (C5), 74.6 (C3'), 85.4 (C4'), 89.0 (C1'), 145.8 (C6), 151.1 (C2), 161.2 (C4). ESI MS m/z számolt (C₉H₁₁IN₂O₆)=369.9, mért: [M-H]⁻=368.8. HRMS-ESI [M+Na]⁺ m/z Számolt=392.9562, mért: 392.9560.

5-Tienil-2',3',5'-tri-*O*-benzoil-L-uridin (45)

A **43** származék (1.00 g, 1.46 mmol) 6.4 fejezetben leírt Stille kapcsolását (módszer A) *N,N*-dimetil-formamidban (50 mL) végezve a nyers termék kromatográfiás tisztításával (60 g szilikagél hexán→hexán:EtOAc, 1:1) nyerjük a **45** származékot (700 mg, 75 %). Op.: 85-88 °C, R_f (hexán: EtOAc, 1:1) 0.62. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ : 4.53-4.72 (2H, m, H5'), 4.80 (1H, m, H3'), 5.64 (1H, m, H2'), 5.84 (1H, m, H4'), 6.34 (1H, d, J = Hz, H1'), 7.25-8.13 (18H, m,

Ph, H4'', H3'', H5''), 8.63 (1H, s, H6), 11.42 (1H, bs, NH). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 63.4 (C5'), 69.3 (C2'), 74.3 (C3'), 84.6 (4'), 88.7 (C1'), 108.2 (C5), 122.5-135.8 (2'', 3'', 4'', 5'', C6), 149.5 (C2), 161.3 (C4) 165.3-166.1 (PhCO). ESI MS *m/z* számolt (C₃₄H₂₆N₂O₉S)=638.1, mért: [M+H]⁺=639.0.

5-Tienil-L-uridin (46)

A **45** származékból (650 mg, 1.02 mmol) a benzoil védőcsoportok eltávolításával (6.4 fejezet), majd oszlopkromatográfiás tisztítással (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) állítjuk elő a **46** vegyületet (289 mg, 87 %). Op.: 168-171 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.58. [α]²⁵_D +41 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm⁻¹ (KBr) 3521, 3375 (OH); 3037, 2930, 1720 (C=O, laktám), 1689, 1663, 1646, 1471, 1421 (C=C, pirimidin váz); 1263 (C=C, tiofén váz) 1125, 1087, 1047, 697. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.60-3.76 (2H, m, H5'), 3.90 (1H, m, H3'), 4.04 (1H, m, H4'), 4.11 (1H, m, H2'), 5.08 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, OH), 5.38 (1H, m, OH), 5.44 (1H, m, OH), 5.82 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, H1'), 7.03 (1H, t, *J* = 4.8 Hz, H4''), 7.39 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H3''), 7.43 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H5''), 8.63 (1H, s, H6), 11.65 (1H, bs, NH). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 60.8 (C2'), 70.0 (C5'), 75.1 (C3'), 85.3 (C4'), 89.4 (C1'), 109.0 (C5), 123.2-133.9 (C2'', C3'', C4'', C5''), 135.9 (C6), 150.3 (C2), 162.0 (C4). ESI MS *m/z* számolt (C₁₃H₁₄N₂O₆S)= 326.3, mért: [M-H]⁻=324.9, HRMS-ESI [M+H]⁺ *m/z* számolt=327.0652, mért: 327.0651.

6.11 A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-azido-L-uridinek előállítása

2'-Dezoxi-2'-azido-L-uridin (47)

A **2** anhidro származék (250 mg, 1.11 mmol) *N,N*-dimetil-formamidos oldatához (10 mL) lítium-azidot (390 mg, 8.00 mmol) és benzoetsavat (136 mg, 1.11 mmol) adunk, majd a reakcióelegyet 155 °C-on 3 órát kevertetjük. Az oldószert lehűlés után motorvákuumban lepároljuk. A nyers bepárlási maradék oszlopkromatográfiás tisztításával (20 g szilikagél, EtOAc→EtOAc:aceton, 2:1) izoláljuk a fehér kristályos **47** terméket (120 mg, 41 %). A termék erősen higroszkópos és pár perc alatt elfolyósodik. Op.: 135-138 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.57. [α]²⁵_D +31 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm⁻¹ (KBr) 3378 (OH); 2117 (azido), 1718 (C=O, laktám); 1701, 1466 (C=C, pirimidin váz); 1270, 1097. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.32, 3.59 (2H, m, H5'), 3.87 (1H, m, H3'), 4.02 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, H4'), 4.27 (1H, t, *J* = 4.8 Hz, H2'), 5.15-5.30 (2H, m, OH), 5.64 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H5), 5.86 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, H1'), 7.83 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H6), 11.37 (1H, bs, NH). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 60.2 (C2'), 64.6 (C5'), 70.4 (C3'), 85.2 (C1'), 85.6 (C4'), 102.1 (C5), 140.0 (C6), 150.4 (C2), 163.0 (C4). ESI MS

m/z számolt ($C_9H_{11}N_5O_5$)=269.2, mért: $[M-H]^-$ =267.7, HRMS-ESI $[M+Na]^+$ m/z számolt=292.0659, mért: 292.0658.

2'-Dezoxi-2'-azido-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (48)

A **47** származékából (400 mg, 1.49 mmol) debenzoilezéssel (6.4 fejezet) majd oszlopkromatográfiás tisztítással (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) nyerjük a sárga kristályos **48** terméket (500 mg, 70 %). Op.: 145-148 °C, R_f (hexán: EtOAc, 1:1) 0.37. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.45, 4.63 (2H, m, H5'), 4.67 (1H, m, H3'), 4.80 (1H, m, H4'), 5.59 (2H, m, H2', H5), 6.01 (1H, d, J = 4.2 Hz, H1'), 7.44-8.11 (11H, m, Ph, H6), 9.31 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ : 63.0 (C2'), 64.7 (C5'), 71.94 (C3'), 80.3 (C4'), 89.0 (C1'), 103.4 (C5), 128.4-134.3 (Ph), 139.2 (C6), 150.2 (C2), 163.1 (C4), 165.9-166.2 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($C_{23}H_{19}N_5O_7$)=477.0, mért: $[M-H]^-$ = 476.1.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-azido-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (49)

A **48** vegyületet (500 mg, 1.05 mmol) jódozásával (6.4 fejezet) kapott nyerterméket flash kromatográfiával tisztítva kapjuk a sárga kristályos **49** vegyületet (600 mg, 95 %). Op.: 185-189 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.57. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.52 (2H, m, H5'), 4.60 (1H, m, H3'), 4.62 (1H, m, H4'), 5.58 (1H, t, J = 6.0 Hz, H2'), 5.90 (1H, d, J = 5.1 Hz, H1'), 7.35-8.00 (11H, m, Ph, H6), 11.74 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 62.6 (C2'), 63.2 (C5'), 69.6 (C5), 71.6 (C3'), 79.5 (C4'), 88.1 (C1'), 127.8-133.3 (Ph), 143.5 (C6), 149.7 (C2), 159.9 (C4), 164.8-165.3 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($C_{23}H_{18}N_5O_7$)=603.3, mért: $[M-H]^-$ = 601.8.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-azido-L-uridin (50)

A **49** származékából (250 mg, 0.41 mmol) a védőcsoportok eltávolítása (6.4 fejezet) után oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 19:1) izoláljuk az **50** terméket (125 mg, 78 %). Op.: 68-73 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.39. $[\alpha]_D^{25} +73^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3433 (OH); 3058, 2926, 2114, 1683 (C=O, laktám); 1608, 1446 (C=C, pirimidin váz); 1269, 1094 (Ar-I). 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.54-3.73 (2H, m, H5'), 3.87 (1H, m, H3'), 4.12 (1H, m, H4'), 4.30 (1H, m, H2'), 5.32 (1H, t, J = 4.2 Hz, OH), 5.75 (1H, d, J = 4.2 Hz, OH), 5.91 (1H, d, J = 5.7 Hz, H1'), 8.42 (1H, s, H6), 11.71 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 59.5 (C2'), 65.2 (C5'), 69.6 (C3'), 69.7 (C5), 84.9 (C4'), 86.3 (C1'), 144.5 (C6), 150.1 (C2), 160.5 (C4). ESI MS m/z számolt ($C_9H_{10}IN_5O_5$) = 395.1, mért: $[M+H]^+$ = 394.0, HRMS-ESI $[M+Na]^+$ m/z számolt = 417.9625, mért: 417.9624.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-azido-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (51)

A **49** származék (300 mg, 0.50 mmol) 6.4 fejezetben leírt Stille kapcsolását (módszer A) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (50 g szilikagél hexán→hexán:EtOAc, 1:1) szolgáltatja a fehér kristályos **51** terméket (150 mg, 54.0 %). Op.: 130-132 °C, R_f (hexán:EtOAc=1:1) 0.58. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.48, 4.67 (2H, m, H5'), 4.69 (1H, m, H3'), 4.84 (1H, m, H4'), 5.63 (1H, m, H2'), 6.05 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H1'), 7.49-8.12 (10H, m, Ph), 7.06 (1H, m, H4''), 7.43 (1H, m, H3''), 7.47 (1H, m, H5''), 8.69 (1H, s, H6), 11.81 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 63.1 (C2'), 63.7 (C5'), 72.1 (C3'), 79.8 (C4'), 89.3 (C1'), 109.6 (C5), 126.9 (C4''), 127.4 (C3''), 128.3-136.5 (Ph, C5'', C2''), 144.2 (C6), 150.5 (C2), 162.8 (C4), 165.2-165.9 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$)=559.5, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=560.4$.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-azido-L-uridin (52)

A **51** vegyület (150 mg, 0.27 mmol) debenzoilezése (6.4 fejezet) és oszlopkromatográfiás tisztítása (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 19:1) után nyerjük az **52** származékot (73 mg, 78 %). Op.: 95-98 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.44. $[\alpha]_D^{25} +139^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3412 (OH); 3041, 2930, 2122, 1679 (C=O, laktám); 1470, 1423 (C=C, pirimidin váz); 1275 (C=C, tiofén váz) 1095, 1059, 720, 593. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.60-3.82 (2H, m, H5'), 3.94 (1H, m, H3'), 4.25 (1H, m, H4'), 4.39 (1H, m, H2'), 5.48 (1H, m, OH), 5.85 (1H, m, OH), 5.95 (1H, m, H1'), 7.02 (1H, m, C4''), 7.40 (1H, m, C3''), 7.43 (1H, m, C5''), 8.59 (1H, s, H6), 11.78 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): 60.2 (C2'), 66.1 (C5'), 70.4 (C3'), 85.6 (4'), 87.2 (C1'), 109.2 (C5), 123.4 (C6), 126.5 (C4''), 127.1 (C3''), 134.5 (C5''), 135.8 (C2''), 150.0 (C2), 162.0 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$)=351.3, mért: $[\text{M}-\text{H}]^-=349.8$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt= 374.0537, mért: 374.0535.

6.12 A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridinek előállítása

2,2'-Anhidro-3',5'-di-*O*-tetrahidropiranyl-L-uridin (53)

A **2** anhidro származék (3.50 g, 15.48 mmol) száraz DMF oldószeres (60 mL) szuszpenziójához hozzáadjuk a *p*-toluolszulfonsavat (2.94 g, 15.48 mmol) majd szobahőmérsékleten kevertetve a szuszpenziót homogén oldatot kapunk. Jeges-vizes hűtés mellett a DHP reagenst (18 mL, 197.80 mmol) csepegtetünk az elegyhez kevertetés közben, majd további 2 órát kevertetjük 0 °C-on. Ezután a reakcióelegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten kevertetjük és TEA (1.5 mL) hozzáadása után bepároljuk. A kapott barna szirupot etil-acetátban (80 mL) oldjuk és telített NaHCO_3 oldattal (3x30 mL) extraháljuk. A

vizes fázist etil-acetáttal (3x30 mL) mossuk, majd az egyesített szerves fázisokat szárítjuk (Na_2SO_4) és az oldószert lepároljuk. A bepárlási maradék oszlopkromatográfiás tisztításával (60 g szilikagél, $\text{DCM} \rightarrow \text{DCM}:\text{MeOH}$, 1:1) nyerjük a fehér kristályos **53** THP-védett vegyületet (5.30 g, 87 %). Op.: 132-136 °C, R_f ($\text{DCM}:\text{MeOH}=6:1$) 0.65, 0.68. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.40-1.90 (12H, m, THP), 3.30-3.94 (6H, m, THP, H5'), 4.57-4.80 (1H, m, H3'), 5.28 (1H, m, H2'), 5.54 (1H, m, H4'), 6.03 (1H, m, C5), 6.20 (1H, d, $J = 21.3$ Hz, H1'), 7.35 (1H, $J = 6.3$, H6), 9.58 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 19.5, 25.2, 30.6, 62.8 (THP), 66.8 (C5'), 80.7 (C2'), 81.8 (C3'), 86.4 (C4'), 90.6 (C1'), 99.5 (THP), 110.3 (C5), 134.7 (C2), 159.9 (C4), 143.1 (C6). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7$)=394.4, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=395.1$.

3',5'-Di-*O*-tetrahidropiranyl-*ara*-L-uridin (54)

Metanolban (30 mL) oldott **53** származék (2.00 g, 5.07 mmol) és NaOH (405 mg, 10.12 mmol) vízzel (10 mL) készült oldatát szobahőmérsékleten 2 órát kevertetjük, majd 1%-os ecetsav oldattal közömbösítés után bepároljuk. Az elegyet EtOAc (2x20 mL) hozzáadásával ismételtelen bepároljuk majd a nyersterméket diklórmétánban (50 mL) oldjuk és telített NaCl oldattal (3x20 mL) mossuk. A szerves fázist bepárolva nyerjük a fehér kristályos **54** származékot (2,00 g, 96 %). Op.: 58-62 °C, R_f ($\text{DCM}:\text{MeOH}$, 6:1) 0.76. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.40-1.80 (12H, m, THP), 3.60-4.02 (6H, m, THP, H5'), 4.20-4.86 (2H, m, H3', OH), 5.58 (1H, m, H2'), 5.60 (1H, m, H5), 6.11 (1H, m, H4'), 6.26 (1H, d, $J = 21.3$ Hz, H1'), 7.83 (1H, d, $J = 6.3$, H6), 9.58 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 19.5, 25.2, 30.7, 62.7 (THP), 63.4 (C5'), 73.8 (C2'), 75.0 (C3'), 85.7 (C4'), 87.0 (C1'), 101.0 (C5), 141.7 (C6), 150.6 (C2), 164.2 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$) = 412.4, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 413.2$.

2'-Dezoxi-2'-fluor-3',5'-di-*O*-tetrahidropiranyl-L-uridin (55)

Az **54** vegyületet (2.00 g, 4.85 mmol) száraz 1,2-diklóretán (35 mL) és száraz piridin (6 mL) elegyében oldjuk majd -70 °C-ra hűtve az elegyhez intenzív kevertetés közben hozzácepegtetjük a DAST reagenst (1.90 mL, 14.55 mmol). Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre melegedni, majd további 4 órát 40 °C-os vízfürdőben kevertetjük. A reakcióelegyet miután szobahőmérsékletűre hűlt, telített NaHCO_3 oldattal (3x10 mL) extraháljuk, majd a szerves fázist szárítjuk (Na_2SO_4) és az oldószert lepároljuk. A nyerstermék oszlopkromatográfiás tisztításával (50 g szilikagél, $\text{DCM} \rightarrow \text{DCM}:\text{MeOH}$, 19:1) nyerjük a fehér kristályos **55** származékot (1,43 g, 71 %). Op.: 55-58 °C, R_f ($\text{DCM}:\text{MeOH}=19:1$) 0.60, ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.40-1.80 (12H, m, THP), 3.50-4.00 (9H,

m, THP, H5', H3'), 4.30 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H4'), 4.66-4.83 (1H, m, H2'), 5.66 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, C5), 6.04 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H1'), 8.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H6), 9.29 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 19.5, 25.2, 30.7 (THP), 62.0 (C5'), 62.3 (THP), 73.6, 74.2 (C3'), 97.5, 98.9 (C2'), 87.7, 88.3 (C1'), 80.2, (C4'), 102.2 (C5), 140.1 (C6), 150.1 (C2), 163.4 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_7$)=414.4, mért: $[\text{M}-\text{H}]^-$ =413.2.

2'-Dezoxi-2'-fluor-L-uridin (56)

Az **55** származék (1.00g, 2.41 mmol) metanolos (20 mL) oldatához *p*-TsOH reagenst (1.00 g, 5.2 mmol) adunk és az elegyet szobahőmérsékleten 16 órát kevertetjük, majd bepároljuk. A bepárlási maradékot oszlopkromatográfiásan tisztítva (50 g szilikagél, EtOAc→EtOAc:MeOH, 19:1) izoláljuk a fehér higroszkópos **56** vegyületet (500 mg, 84 %). Op.: 147-148 °C, R_f (DCM:MeOH, 2:1) 0.57. $[\alpha]_D^{25}$ -46 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3433 (OH); 1652 (C=O, laktám); 1457 (C=C, pirimidin váz); 1385, 1271, 1106, 1065. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.53-3.77 (2H, m, H5'), 3.85 (1H, m, H3'), 4.13 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H4'), 4.91-5.10 (1H, m, H2'), 5.17 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, OH), 5.59 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, OH), 5.60 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H5), 5.88 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H1'), 7.89 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H6), 11.36 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.0 (C5'), 67.9, 68.2 (C3'), 83.9, 87.6 (C1'), 88.1 (C4'), 93.0, 95.4 (C2'), 102.3 (C5), 141.1 (C6), 151.0 (C2), 163.9 (C4). ^{19}F NMR (DMSO- d_6) δ : 198.6 (1F, m, F2'). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_5$)=246.0, mért: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ =269.3. HRMS-ESI $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z számolt= 269.0549, mért: 269.0550.

2'-Dezoxi-2'-fluor-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (57)

Az **56** származék (500 mg, 2.03 mmol) 6.4 fejezetben leírt benzoilezésével majd a nyers termék oszlopkromatográfiás tisztításával (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) nyerjük a fehér kristályos **57** vegyületet (820 mg, 89 %). Op.: 210-216 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.23. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.60-4.74 (2H, m, H5'), 4.79 (1H, m, H3'), 5.52 (1H, m, H2'), 5.58 (1H, m, H4'), 5.68 (1H, m, H5), 5.88 (1H, d, $J = 21.3$ Hz, H1'), 7.40-8.06 (11H, m, H6, Ph), 11.14 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 62.7 (C5'), 70.4 (C3'), 78.2 (C4'), 91.5 (C1'), 92.0 (C2'), 102.6 (C5), 128.2-133.4 (Ph), 140.9 (C6), 149.9 (C2), 163.2 (C4), 164.9-165.6 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_7$)=454.4, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 455.3.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-fluor-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (58)

Az **57** származék (600 mg, 1.32 mmol) jódosásával (6.4 fejezet) majd a nyers termék oszlopkromatográfiás tisztítással (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) kapjuk a sárga

kristályos **58** vegyületet (730 mg, 95 %). Op.: 95-103 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.56. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.66, (2H, m, H5'), 4.73 (1H, m, H3'), 5.58 (1H, m, H2'), 5.70 (1H, m, H4'), 5.89 (1H, d, $J = 21.3$ Hz, H1'), 7.41-8.05 (10H, m, Ph), 7.97 (1H, s, H6), 11.83 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 63.3 (C5'), 69.9 (C5), 70.8 (C3'), 78.9 (C4'), 91.9 (C1'), 105.0 (C2'), 128.6-133.8 (Ph), 146.0 (C6), 150.1 (C2), 160.8 (C4), 165.2-166.0 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{FIN}_2\text{O}_7$)= 580.3, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=581.1$.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridin (59)

Az **58** származékából (200 mg, 0.34 mmol) debenzoilezéssel (6.4 fejezet) és oszlopkromatográfiás tisztással (20 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 19:1) nyerjük az **59** terméket (110 mg, 88 %). Op.: 214-220 °C, R_f (DCM: MeOH, 9:1) 0.41. $[\alpha]_D^{25} +7^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3384 (OH); 3077 (NH); 2920, 1702 (C=O, laktám); 1682, 1612, 1448 (C=C, pirimidin váz); 1416, 1290, 1263, 1110, 1071 (Ar-I), 1041. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.50-3.83 (2H, m, H5'), 3.87 (1H, m, H3'), 4.15 (1H, m, H4'), 4.92, 5.09 (1H, m, H2'), 5.37 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, OH), 5.59 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, OH), 5.83 (1H, d, $J = 16.5$ Hz, H1'), 8.50 (1H, s, H6), 11.69 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 58.5 (C5'), 66.7, 66.9 (C3'), 69.1 (C5), 83.0 (C4'), 87.2, 87.7 (C1'), 92.5, 94.9 (C2'), 144.7 (C6), 150.0 (C2), 160.6 (C4). ^{19}F NMR (DMSO- d_6) δ : 199.1 (1F, m, F2'). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FIN}_2\text{O}_5$)=372.1, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=373.1$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=372.9704, mért: 372.9697.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-fluor-3',5'-di-O-benzoil-L-uridin (60)

Az **58** származékából (450 mg, 0.77 mmol) Stille kapcsolással (6.4 fejezet, módszer A) és szilikagél kromatográfiás tisztítással (50 g szilikagél, hexán \rightarrow hexán:EtOAc, 1:1) nyerjük a **60** vegyületet (377 mg, 91 %). Op.: 153-155 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.64. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.62-4.76 (2H, m, H5'), 4.83 (1H, m, H3'), 5.58 (1H, m, H2'), 5.70 (1H, m, H4'), 5.95 (1H, dd, $J = 19.8$ Hz, H1'), 7.23-8.08 (14H, m, Ph, H6, H3'', H4'', H5''), 8.82 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 63.1 (C5'), 71.0 (C3'), 79.1 (C4'), 91.8 (C1'), 92.1 (C2'), 111.2 (C5), 128.6-135.9 (Ph, C2'', C3'', C4'', C5'', C6), 148.9 (C2), 161.0 (C4), 165.6-166.4 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_7\text{S}$)=536.5, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+=537.3$.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-fluor-L-uridin (61)

A **60** származék (200 mg, 0.37 mmol) debenzoilezésével (6.4 fejezet) és oszlopkromatográfiás tisztításával (20 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 19:1) izoláljuk a **61** terméket (110 mg, 89 %). Op.: 190-193 °C, R_f (DCM: MeOH, 9:1) 0.43, $[\alpha]_D^{25} -53^\circ$ (c 0.25;

MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3396 (OH); 1695 (C=O, laktám); 1653, 1475, 1417 (C=C, pirimidin váz); 1290 (C=C, tiofén váz) 1134, 1104, 1076, 726. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.65, 3.86 (2H, m, H5'), 3.92 (1H, m, H3'), 4.10 (1H, dd, $J = 5.7$ Hz, H4'), 4.99, 5.17 (1H, m, H2'), 5.54 (1H, t, $J = 4.2$ Hz, OH), 5.61 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, OH), 5.96 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H1'), 7.02 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H3''), 7.37 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H4''), 7.42 (1H, m, H5''), 8.66 (1H, s, H6), 11.74 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 58.5 (C5'), 66.3, 66.8 (C3'), 83.0 (C1'), 87.7 (C4'), 92.8, 95.2 (C2'), 108.2 (C5), 122.5 (C3''), 125.7 (C6), 126.4 (C4''), 131.6 (C5''), 133.9 (C2''), 149.2 (C2), 161.4 (C4). ^{19}F NMR (DMSO- d_6) δ : 198.9 (1F, m, F2'). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_5\text{S}$)=328.3, mért: $[\text{M}-\text{H}]^-$ =326.9. HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=326.0607, mért: 326.0609.

6.13 A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-klór-L-uridinek előállítása

2'-Dezoxi-2'-klór-L-uridin (62)

A **2** anhidro származék (1.00 g, 4.42 mmol) *N,N*-dimetilformamidos (30 mL) oldatához HCl dioxános oldatát (1.5 mL, 5.3 M) adjuk és az elegyet 90 °C-on 2 órán át kevertetjük. A reakcióelegyet bepárolva és oszlopkromatográfiával tisztítva (50 g szilikagél, DCM \rightarrow DCM:MeOH, 19:1) nyerjük a fehér kristályos **62** vegyületet (1.06 g, 91 %). Op.: 208-213 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.46, $[\alpha]^{25}_D$ -14 ° (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3441, 3349 (OH); 3211 (NH); 2928, 1695 (C=O, laktám); 1462, (C=C, pirimidin váz) 1391, 1263, 1093, 1039, 831, 539. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.60 (2H, m, H5'), 3.95 (1H, m, H4'), 4.20 (1H, m, H3'), 4.55 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H2'), 5.23 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, OH), 5.68 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, OH), 5.85 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H1'), 6.00 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H5), 7.96 (1H, s, H6), 11.40 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 60.1 (C2'), 61.9 (C5'), 69.1 (C3'), 85.0 (C4'), 87.9 (C1'), 102.1 (C5), 139.8 (C6), 150.6 (C2), 163.0 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_5$)=262.6, mért: $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ =296.7, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=263.0439, mért: 263.0435.

2'-Dezoxi-2'-klór-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (63)

A **62** származék (500 mg, 1.90 mmol) benzoilezését (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (50 g szilikagél, hexán \rightarrow hexán:EtOAc, 1:1) szolgáltatja a fehér kristályos **63** terméket (880 mg, 98 %). Op.: 74-78 °C, R_f (hexán :EtOAc, 1:1) 0.29. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.71 (2H, m, H5'), 4.77 (1H, m, H4'), 4.80 (1H, m, H3'), 5.62 (1H, m, H2'), 6.20 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H1'), 7.26-8.10 (14H, m, Ph, H6), 9.29 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 59.2 (C2'), 63.0 (C5'), 71.5 (C3'), 80.3 (C4'), 91.4 (C1'), 103.5 (C5), 128.7-134.2 (Ph), 139.3 (C6), 150.2 (C2), 163.0 (C4), 165.6-166.2 (PhC=O).

ESI MS m/z számolt ($C_{23}H_{19}ClN_2O_7$)=470.0, mért: $[M+H]^+$ =471.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-klór-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (64)

A **63** származék (400 mg, 0.85 mmol) jódosását (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítással (50 g of szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 9:1) kapjuk a fehér kristályos **64** származékot (500 mg, 98 %). Op.: 105-110 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.58. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.55, (2H, m, H5'), 4.60 (1H, m, H4'), 4.71 (1H, t, J = 5.7 Hz, H3'), 5.53 (1H, m, H2'), 6.05 (1H, d, J = 5.7 Hz, H1'), 7.28-7.96 (10H, m, Ph), 7.74 (1H, s, H6), 11.40 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 58.4 (C2'), 63.0 (C5'), 70.2 (C5), 71.5 (C3'), 80.1 (C4'), 90.8 (C1'), 128.4-133.7 (Ph), 140.5 (C6), 150.0 (C2), 160.1 (C4), 165.0-165.8 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($C_{23}H_{18}ClIN_2O_7$)=596.7, mért: $[M+H]^+$ =597.2.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-klór-L-uridin (65)

A **64** származékból (200 mg, 0.34 mmol) debenzoilezéssel (6.4 fejezet) majd oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 19:1) izoláljuk a fehér kristályos **65** vegyületet (90 mg, 67 %). Op.: 211-215 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.48, $[\alpha]_D^{25} +40^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3429 (OH); 3383 (NH); 1702 (C=O, laktám); 1686, 1609, 1447 (C=C, pirimidin váz); 1399, 1284, 1260, 1215, 1037 (Ar-I); 843, 552. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.55-3.77 (2H, m, H5'), 3.94 (1H, m, H4'), 4.23 (1H, m, H3'), 4.58 (1H, t, J = 4.5 Hz, H2'), 5.39 (1H, t, J = 4.5 Hz, OH), 5.82 (1H, d, J = 5.4 Hz, OH), 5.92 (1H, d, J = 4.2 Hz, H1'), 8.52 (1H, s, H6), 11.73 (1H, bs, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 59.2 (C2'), 62.9 (C5'), 68.1 (C3'), 69.6 (C5), 84.4 (C4'), 88.7 (C1'), 144.3 (C6), 150.2 (C2), 160.5 (C4). ESI MS m/z számolt ($C_9H_{10}ClIN_2O_5$)=388.5, mért: $[M-H]^-$ =386.8, HRMS-ESI $[M+H]^+$ m/z számolt=388.9396, mért: 388.9401.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-klór-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (66)

A **64** származékból (800 mg, 1.34 mmol) Stille kapcsolással (6.4 fejezet, módszer A) állítjuk elő és oszlopkromatográfiával tisztítva (50 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 1:1) nyerjük a fehér kristályos **66** terméket (700 mg, 94 %). Op.: 203-207 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.62. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.06, 4.56 (2H, m, H5'), 4.62 (1H, m, H4'), 4.81 (1H, t, J = 6.0 Hz, H2'), 5.58 (1H, m, H3'), 6.14 (1H, d, J = 5.7 Hz, H1'), 6.72-7.96 (14H, m, Ph, H6, H3'', H4'', H5''), 11.14 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 58.6 (C2'), 63.5 (C5'), 68.2 (C3'), 71.9 (C4'), 80.4 (?), 91.2 (C1'), 111.1 (C5), 124.5 (C6), 125.9-135.0 (C2'', C3'', C4'', C5'',

Ph), 149.08 (C2), 161.5 (C4), 165.4-167.8 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($C_{27}H_{21}ClN_2O_7S$)=552.9, mért: $[M+H]^+=553.3$.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-klór-L-uridin (67)

A **66** származékából (500 mg, 0.90 mmol) debenzoilezéssel (6.4 fejezet) majd oszlopkromatográfiás tisztítással (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 19:1) izoláljuk a fehér kristályos **67** vegyületet (210 mg, 67 %). Op.: 220-224 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.42, $[\alpha]_D^{25} +78^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3435 (OH); 2959, 2929, 2859, 1729 (C=O, laktám); 1467 (C=C, pirimidin váz); 1281 (C=C, tiofén váz) 1122, 1073. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.65, 3.81 (2H, m, H5'), 3.99 (1H, m, H4'), 4.1 (1H, m, H2'), 4.31 (1H, m, H3'), 5.53 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, OH), 5.83 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, OH), 6.05 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H1'), 7.02 (1H, m, H3''), 7.40 (1H, m, H4''), 7.67 (1H, m, H5''), 8.66 (H6), 11.74 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 59.2 (C2'), 63.2 (C5'), 68.1 (C3'), 84.4 (C1'), 89.0 (C4'), 108.5 (C5), 122.7 (C3''), 126.4 (C4''), 131.6 (C5''), 133.8 (C2''), 134.8 (C6), 149.4 (C2), 161.3 (C4). ESI MS m/z számolt ($C_{13}H_{13}ClN_2O_5S$)=344.8 mért: $[M-H]^- = 342.8$, HRMS-ESI $[M+Na]^+ m/z$ számolt=367.0132, mért: 367.0131.

6.14 A bázismódosított 2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridinek előállítása

2'-Dezoxi-2'-bróm-L-uridin (68)

A **2** anhidro származék (1.00 g, 4.42 mmol) *N,N*-dimetilformamidos (20 mL) szuszpenziójához hozzáadjuk a HBr ecetsavas oldatát (746 μ L, 48%) és néhány perc kevertetés után homogén elegyet kapva az oldatot 100 °C-on 5 órát kevertetjük majd bepároljuk. Kromatográfiás tisztítás (70 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) eredményezi a fehér kristályos **68** terméket (1.12 g, 82 %). Op.: 196-200 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.33, $[\alpha]_D^{25} -33^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3455 (OH); 3349, 3221 (NH); 2927, 1694 (C=O, laktám); 1463 (C=C, pirimidin váz); 1389, 1285, 1258, 1091, 1034, 833. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.65 (2H, m, H5'), 3.95 (1H, q, $J = 3.3$ Hz, H4'), 4.09 (1H, t, $J = 4.2$ Hz, H3'), 4.58 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H2'), 5.32 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, OH), 5.42 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, OH), 5.67 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H5), 6.13 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H1'), 7.91 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H6), 11.40 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 54.1 (C2'), 60.2 (C5'), 69.1 (C3'), 85.3 (C4'), 88.0 (C1'), 102.1 (C5), 139.8 (C6), 150.6 (C2), 163.0 (C4). ESI MS m/z számolt ($C_9H_{11}BrN_2O_5$)=306.0, 308.0, mért: $[M+Cl]^- = 341.0, 343.0$, HRMS-ESI $[M+H]^+ m/z$ számolt=306.9930, mért: 306.9931.

2'-Dezoxi-2'-bróm-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (69)

Az 1.00 g (3.26 mmol) **68** származékból indulva a benzoilezést (6.4 fejezet) követő oszlopkromatográfiás tisztítás (60 g szilikagél, EtOAc→EtOAc:MeOH, 9:1) után (1.40 g, 83%) fehér színű **69** származékot kapunk. Hozam: 83 %, op: 70-72 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.35. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.71 (2H, m, H5'), 4.73 (1H, m, H3'), 4.80 (1H, m, H4'), 5.52 (1H, d, J = 5.4 Hz, H5), 5.60 (1H, t, J = 8.1 Hz, H2'), 6.35 (1H, d, J = 5.4 Hz, H1'), 7.26-8.12 (11H, m, Ph, H6), 9.21 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 49.0 (C2'), 63.0 (C5'), 71.4 (C3'), 80.6 (C4'), 91.2 (C1'), 103.5 (C5), 128.7-134.2 (Ph), 139.0 (C6), 150.1 (C2), 162.8 (C4), 165.6-166.2 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_7$)=514.0, 516.0, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 515.0, 517.0.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-bróm-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (70)

A **69** származék (800 mg, 1.56 mmol) jódozása (6.4 fejezet) majd a nyerste termék oszlopkromatográfiás tisztítása (60 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 2:1) eredményezi a fehér kristályos **70** terméket (800 mg, 80 %). Op.: 191-194 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.58. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.68 (2H, m, H5'), 4.74 (1H, m, H3'), 4.76 (1H, m, H4'), 5.57 (2H, m, H2'), 6.33 (1H, d, J = 6.3 Hz, H1'), 7.43-8.12 (11H, m, Ph, H6), 10.85 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 48.5 (C2'), 63.2 (C5'), 70.4 (C5), 71.7 (C3'), 80.8 (C4'), 90.8 (C1'), 128.7-133.4 (Ph), 143.3 (C6), 150.1 (C2), 160.1 (C4), 165.3-166.0 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{BrIN}_2\text{O}_7$)=639.9, 641.9, mért: $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ = 658.1, 660.1.

5-Jód-2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridin (71)

A **70** származék (400 mg, 0.62 mmol) benzoil védőcsoportjainak eltávolítása (6.4 fejezet) és a nyerste termék kromatográfiás tisztítása (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 19:1) eredményezi a fehér kristályos **71** származékot (218 mg, 81 %). Op.: 89-90 °C, R_f (DCM:MeOH, 9:1) 0.41 $[\alpha]_D^{25} +56^\circ$ (c 0.8; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3431 (OH); 2929 (NH); 1697 (C=O, laktám); 1615, 1455, 1418 (C=C, pirimidin váz); 1319, 1215, 1093, 1054 (Ar-Cl), 736. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.26 (2H, m, H5'), 3.45 (1H, q, J = 3.3 Hz, H4'), 4.39 (1H, m, H3'), 4.67 (1H, m, H2'), 4.99 (1H, bs, OH), 5.95 (1H, bs, OH), 6.33 (1H, d, J = 5.7 Hz, H1'), 8.46 (1H, s, H6), 11.40 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 49.5 (C2'), 60.9 (C5'), 74.9 (C3'), 89.6 (C4'), 90.3 (C1'), 112.0 (C5), 141.8 (C6), 153.5 (C2), 161.8 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{BrIN}_2\text{O}_5$)=431.9, 433.9 mért: $[\text{M}-\text{H}]^-$ = 430.8, 432.8, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z számolt=432.8896, mért: 432.8895.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-bróm-3',5'-di-*O*-benzoil-L-uridin (72)

A **70** származék (460 mg, 0.72 mmol) Stille kapcsolásával (6.4 fejezet, módszer B) dioxánban állítjuk elő majd a nyers termék oszlopkromatográfiás tisztításával (30 g szilikagél, hexán→hexán:EtOAc, 2:1) kapjuk a **72** terméket (350 mg, 82 %). Op.: 186-190 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:1) 0.62. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 4.72 (2H, m, H5'), 4.74 (1H, m, H3'), 4.80 (1H, m, H4'), 5.62 (2H, m, H2'), 6.44 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H1'), 7.70 (1H, m, H6), 6.84-8.13 (13H, m, Ph, H3'', H4'', H5''), 8.67 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ : 48.4 (C2'), 63.6 (C5'), 72.0 (C3'), 81.3 (C4'), 90.8 (C1'), 111.7 (C5), 125.2-134.3 (Ph, C2'', C3'', C4'', C6), 149.3 (C2), 160.7 (C4), 165.6-166.3 (PhCO). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{BrN}_2\text{O}_7\text{S}$)=596.0, 598.0 mért: $[\text{M}-\text{H}]^-$ =595.1, 597.1.

5-Tienil-2'-dezoxi-2'-bróm-L-uridin (73)

A **72** származékból (350 mg, 0.59 mmol) a benzoil védőcsoportok eltávolítása (6.4 fejezet) és kapott a nyers termék kromatográfiás tisztítása (20 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 19:1) eredményezi a fehér kristályos **73** származékot (85 mg, 37 %). Op.: 206-210 °C, R_f (DCM:MeOH=9:1) 0.39, $[\alpha]_D^{25} +81^\circ$ (c 0.25; MeOH). IR γ/cm^{-1} (KBr) 3435 (OH); 2925 (NH); 1702 (C=O, laktám); 1470 (C=C, pirimidin váz); 1282 (C=C, tiofén váz); 1177, 1093, 1060, 700. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 3.64-3.83 (2H, m, H5'), 4.00 (1H, m, H4'), 4.11-4.20 (1H, m, H3'), 4.74 (1H, m, H2'), 5.54 (1H, m, OH), 5.90 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, OH), 6.19 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H1'), 7.02 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H5''), 7.41 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H3''), 7.46 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H4'') 8.66 (1H, s, H6), 11.75 (1H, s, NH). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 55.9 (C2'), 59.2 (C5'), 67.9 (C3'), 84.8 (C4'), 89.2 (C1'), 108.5 (C5), 122.7-134.8 (C6, C2'', C3'', C4'', C5''), 149.4 (C2), 161.3 (C4). ESI MS m/z számolt ($\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S}$)=390.0, 388.0, mért: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 388.8, 386.8$, HRMS-ESI $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ számolt=410.9630, mért: 410.9626.

6.15 Az L-citidin és az L-citidin előállítása Vorbrüggen kapcsolással

1-*O*-Acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribofuranóz (76)

Az L-ribóz (1.00 g, 6.67 mmol) absz. metanolos (25 mL) oldatához lassú csepegtéssel hozzáadjuk a hidrogén-klorid metanolos oldatát (640 μL , 3.95 M) majd az elegyet szobahőmérsékleten egy éjszakát kevertetjük. A reakcióelegyhez piridint (2x2 mL) adtunk, majd az oldószer lepárlásával nyerjük a szirupszerű 1-*O*-metil-L-ribofuranozidot (**74**, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.49). A nyers glikozidot kloroform (5.5 mL) és piridin (12 mL) elegyében feloldjuk majd jeges vizes hűtés mellett benzoil-kloridot (3.9 mL, 33.5 mmol) csepegtetünk hozzá. A hűtést eltávolítva az elegyet egy éjszakát szobahőmérsékleten

kevertetjük. A reakcióelegyet kloroformmal (30 mL) hígítjuk, majd telített NaHCO₃ oldattal (3x10 mL) és jeges vízzel (3 x 10 mL) extraháljuk. Az egyesített vizes fázisokat kloroformmal (5x10 mL) ismét extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat szárítjuk (MgSO₄), majd az oldószert lepárolva sűrű olajként kapjuk az 1-*O*-metil-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribofuranózt (**75**, 2.74 g, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.70). A **75** származékot (2.74 g, 5.76 mmol) jégecet (4.0 mL, 70 mmol) és ecetsavanhidrid (9.2 mL, 97 mmol) elegyében oldjuk majd jeges-vizes hűtés mellett tömény kénsavat (1.3 mL, 24.4 mmol) csepegtettünk hozzá. A reakcióelegyet két napig hűtőben 5-10 °C-on állni hagyjuk majd jégreöntés után kloroformmal (2x30 mL) extraháljuk. A szerves fázist szárítjuk (MgSO₄), majd az oldószert lepárolva nyerjük az 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil-L-ribofuranózt (**76**, 2.78 g, 96 %, R_f (DCM) 0.30). ESI MS *m/z* számolt (C₂₈H₂₄O₉)=504.5, mért: [M+H]⁺= 505.6.

2',3',5'-Tri-*O*-benzoil-L-citidin (**77**)

Citozint (200 mg, 1.8 mmol) absz. 1,2-diklóretánban (5 mL) szuszpendálunk, majd a BSA reagens (1.32 mL, 5.4 mmol) hozzáadása után argon atmoszféra alatt 15 percig kevertetjük. A kapott homogén oldathoz **76** ribóz származékot (300 mg, 0.60 mmol) majd TMSOTf reagenst (240 µL, 1.32 mmol) adunk. A reakcióelegyet 6 órán keresztül refluxoljuk. A reakció befejeződése után 1,2-diklóretánnal (20 mL) hígítjuk a reakcióelegyet, majd telített NaHCO₃ oldattal (2x10 mL) és vízzel (2x10 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na₂SO₄) és az oldószert lepároljuk. A maradékot szilikagél oszlopkromatográfiával (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) tisztítva nyerjük a **79** származékot (230 mg, 70 %). Op.: 183-185, R_f (DCM:MeOH, 9:1)=0.47. ESI MS *m/z* számolt (C₃₀H₂₅N₃O₈)=555.5, mért: [M+H]⁺= 556.4.

L-Citidin (**78**)

A **79** származékból (0.23 g, 0.41 mmol) debenzoilezés (6.4 fejezet) után a nyersterméket oszlopkromatográfiával (40 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 2:1) tisztítva L-citidint (**8**, 96 mg, 96 %) kapunk. Op.: 217-220 °C, R_f(DCM:MeOH, 2:1) 0.28, [α]_D²⁵ -27 ° (c 1.0; H₂O). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.49-3.66 (2H, m, H5'), 3.80 (1H, m, H4'), 3.88-3.95 (2H, m, H2', H3'), 4.96 (1H, t, *J* = 5.1 Hz, OH), 5.00 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, OH), 5.26 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, OH), 5.69 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H5), 5.75 (1H, d, *J* = 3.9 Hz, H1'), 7.13 (1H, bd, *J* = 8.1 Hz, NH₂), 7.82 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H6). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 60.6 (C5'), 69.4 (C2'), 74.0 (C3'), 84.1 (C4'), 89.2 (C1'), 93.8 (C5), 141.5 (C6), 155.4 (C2), 165.6 (C4). ESI MS *m/z* számolt (C₉H₁₅N₃O₅)=243.2, mért: [M+H]⁺=244.2.

***N*⁶, 2',3',5'-tetra-benzoil-L-adenozin (79)**

A **76** vegyület (500 mg, 1 mmol) száraz 1,2-diklóretános (20 mL) oldatához hozzáadjuk az *N*⁶-benzoil-adenint (480 mg, 2 mmol) és az *N,O*-bis-trimetilszilil-acetamidot (750 µL, 3.07 mmol) majd az elegyet 30 percig argon atmoszféra alatt refluxoltatjuk. A reakcióelegyhez TMSOTf reagenst (840 µL, 4.64 mmol) adunk, majd az elegyet 4 órán keresztül refluxoltatjuk. A reakció befejeződése után 1,2-diklóretánt (20 mL) adunk a reakcióelegyhez és telített NaHCO₃ oldattal (2x10 mL), majd vízzel (2x10 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na₂SO₄), majd az oldószert lepároljuk. A nyersterméket szilikagél kromatográfiával (30g szilikagél, hexán:EtOAc, 2:1 → hexán:EtOAc, 1:2) tisztítva nyerjük a **79** terméket (130 mg, 19 %). Op.: 91-95 °C, R_f (hexán:EtOAc, 1:2) 0.29. ESI MS *m/z* számolt (C₃₁H₂₅N₅O₇)=579.6, mért: [M-H]⁻=578.5.

L-Adenozin (80)

A **79** származékot (130 mg, 0.19 mmol) absz.metanolban (10 mL) oldjuk, majd hozzáadjuk a nátrium-metoxid oldatot (850 µL, 1.0 M) és az elegyet szobahőmérsékleten kevertetjük egy éjszakát. A reakcióelegyet metanollal (10 mL) és vízzel (5 mL) hígítjuk és a pH értékét Dowex 50W-X2 ioncsrlő gyantával semlegesre állítjuk. A kiszűrt gyantát 0.1 M ammónia oldattal (2x10 mL) mossuk. Az egyesített vizes fázisokat szárazra párolva majd szilikagél kromatográfiával (20 g szilikagél, DCM → DCM:MeOH, 2:1) tisztítva nyerjük a **78** L-adenozint (50 mg, 98 %). Op.: 241-243 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1)=0.31, [α]²⁵_D -26° (c 1.0; H₂O). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 3.50-3.70 (2H, m, H5'), 3.96 (1H, m, H4'), 4.14 (1H, m, H2'), 4.60 (1H, m, H3'), 5.16 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, OH), 5.41 (2H, m, OH), 5.87 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H1'), 7.32 (2H, s, NH₂), 8.13 (1H, s, H2), 8.33 (1H, s, H6). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ: 61.7 (C5'), 70.6 (C2'), 73.4 (C3'), 85.9 (C4'), 87.9 (C1'), 119.4 (C5), 140.4 (C6), 149.0 (C4), 152.4 (C2), 156.1 (C9). ESI MS *m/z* számolt (C₁₀H₁₃N₅O₄)=267.3, mért: 268,2 [M+H]⁺

6.16 Az L-adenozin-5'-mono- és az 5'-difoszfát előállítása

L-Citidin-5'-monofoszfát (81)

Az L-citidint (274 mg, 1.13 mmol) frissen desztillált trietilfoszfátban (5 mL, 29.4 mmol) szuszpendálunk és a szuszpenziót szobahőmérsékleten egy órát kevertetjük, majd 0-5 °C-ra hűtve foszroroxikloridot (210 µL, 2.25 mmol) adunk hozzá és további 5 órát kevertetjük jeges vizes hűtés közben. A reakcióidő letelte után az elegyet 30 g tört jégre öntjük és trietilamint (1.5 mL, 15 mmol) adunk hozzá. A jég elolvadása után a kapott elegyet bepárolva fehér kásás

anyaghoz jutunk, amelyhez vizes (4 mL) oldás után cc NH₄OH oldatot (1 mL) adunk. Az elegy bepárlását követően 1.80 g fehér színű, L-citidin-5'-monofoszfát és szervetlen sók elegyéhez jutunk. A nyerstermék sómentesítésére a bepárlási maradékot vízben oldjuk (12 mL), majd tömény sósav (0.3 mL) hozzáadása után Dowex 50x4[H⁺] oszlopra visszük. Az eluálást vízzel (40 mL) majd tömény ammónia oldattal (70 mL) végezzük. A sómentesített származékot tartalmazó frakciókat bepároljuk, majd etanol ismételt lepárlásával vízmentesítve nyerjük a fehér színű amorf kristályos **81** monofoszfátot (297 mg, 81 %). R_f (*i*-PrOH:NH₄OH:H₂O, 11:7:2) 0.33, [α]_D²⁵ -8 ° (c 1.0; H₂O), ESI MS *m/z* számolt (C₉H₁₄N₃O₈P)=323.2, mért: [M-H]⁻=322.1.

L-Citidin-5'-difoszfát (82)

A **81** monofoszfátot (298 mg, 0.92 mmol) absz. *N,N*-dimetilformamidban (17.5 mL) oldjuk és a (Bu₃N⁺H)₂HPO₄²⁻ reagens *N,N*-dimetilformamidos oldatát (0.5 mL, 0.5 M) adjuk. Az elegyet motorvákuumban bepároljuk majd absz. *N,N*-dimetilformamidban feloldjuk és karbonil-diimidazolt (369 mg, 2.27 mmol) adunk hozzá. Az elegyhez egy óra kevertetés után (Bu₃N⁺H)₂HPO₄²⁻ reagens *N,N*-dimetilformamidos oldatát (9.2 mL, 4.60 mmol, 0.5 M) adunk majd egy éjszakát szobahőmérsékleten kevertetjük. Az elegy bepárlása után 679 mg szilárd maradékot kapunk amelyet vízben (8 mL) oldunk és az oldat pH értékét 9-10 közötti értékre állítjuk cc NH₄OH oldattal. Az elegy kromatográfiás tisztítását DEAE Sephadex A-25 [HCO₃⁻] oszlopon végezzük víz→0.5 M TEAB gradiens elúcióval. A terméket tartalmazó frakciókat bepároljuk, majd etanolos (3x8 mL) koevaporációval szárítva nyerjük a szirupszerű **82** terméket (142 mg, 38 % L-CDP szabad savra számítva). R_f (*i*-PrOH:NH₄OH:H₂O, 11:7:2) 0.13, [α]_D²⁵ -12 ° (c 1.0; H₂O), ESI MS *m/z* számolt C₉H₁₅N₃O₁₁P₂=403.2, mért: [M-H]⁻=402.3. A biológiai vizsgálatok előtt célszerűnek tartottuk az L-citidin-5'-difoszfátot félpreparatív HPLC-vel is tisztítani. A tisztítást Nucleosil 100 (100 Å pórusméretű) C18 töltetű (Knauer G) oszlopon végezzük NH₄OAc vizes oldatával (A: 0.1 M, B: 1.0 M) eluálva (5-50 B%, 30 p) lineáris gradiens mellett (t_R (L-CMP)=7.4 perc, t_R (L-CDP)= 9.6 perc, t_R (L-CTP)=9.7 perc).

L-Adenozin-5'-O-monofoszfát (83)

Az L-adenozint (400 mg, 1.50 mmol) frissen desztillált trietilfoszfátban (5 mL, 29.4 mmol) szuszpendálunk és az elegyet egy órát kevertetjük szobahőmérsékleten, majd 0-5 °C –ra hűtve foszroroxikloridot (280 µl, 3.00 mmol) adunk hozzá és vizes hűtés mellett további 6 órát

kevertetjük. Az elegyet ezután 30 g tört jégre öntjük és trietilamint (2.0 mL, 15 mmol) adunk hozzá. A jég elolvadása után az elegyet bepároljuk, majd vízben (4 mL) oldjuk és cc NH₄OH oldatot (1.4 mL) adunk hozzá. Az elegyet szárazra párolva nyerjük a fehér színű nyersteget (2.15 g) amelynek sómentesítését az alábbiak szerint végezzük. A nyersteget vízben oldjuk (15 mL), majd tömény sósav (0.4 mL) hozzáadásával savanyítjuk és Dowex 50x4[H⁺] oszlopra visszük. Az eluálást vízzel (50 mL) majd tömény ammónia oldattal (80 mL) végezzük. A sómentesített származékot tartalmazó frakciókat bepároltuk, majd a maradékot etanollal ismételtén bepárolva nyerjük a vízmentes amorf **83** teget (392 mg, 75 %). R_f (*i*-PrOH:NH₄OH:H₂O, 11:7:2) 0.44, [α]²⁵_D -35 ° (c = 1.0; H₂O), ESI MS *m/z* számolt (C₁₀H₁₅N₅O₁₀P₂)=347.2, mért: [M-H]⁻=346.3.

L-Adenozin-5'-difoszfát (84)

A **83** származékot (392 mg, 1.13 mmol) absz. *N,N*-dimetilformamidban (22 mL) oldjuk, majd hozzáadjuk a (Bu₃N⁺H)₂HPO₄²⁻ reagens *N,N*-dimetilformamidos oldatát (610 μL, 0.5 M) majd az elegyet motorvákuumban bepároljuk. A maradékot absz. *N,N*-dimetilformamidban oldjuk és karbonil-diimidazolt (460 mg, 2.83 mmol) adunk hozzá. Másfél óra kevertetés után a (Bu₃N⁺H)₂HPO₄²⁻ reagens *N,N*-dimetilformamidos oldatát (11.6 mL, 5.80 mmol, 0.5 M) dunk hozzá és a reakcióelegyet 18 órát kevertetjük szobahőmérsékleten. Az elegy bepárlása után kapott szilárd maradékot (840 mg) vízben (10 mL) oldjuk, majd az oldat pH értékét 9-10 közötti értékre állítjuk cc NH₄OH oldattal. Az így kapott oldat kromatográfiás tisztítását DEAE Sephadex A-25 [HCO₃⁻] oszlopon víz→0.5 M TEAB gradiens elúcióval végezzük. A teget tartalmazó frakciókat bepároljuk, majd ismételt etanolos (3x10 mL) bepárlással nyerjük a száraz szirupos **84** teget (227 mg, 47%). L-ADP R_f (*i*-PrOH:NH₄OH:H₂O, 11:7:2)=0.24, L-ATP R_f (*i*-PrOH:NH₄OH:H₂O, 11:7:2) 0.08. [α]²⁵_D +29 ° (c 1.0; H₂O), ESI MS *m/z* számolt (C₁₀H₁₅N₅O₁₀P₂)=427.2, mért: [M-H]⁻= 426.3. A biológiai vizsgálatok előtt célszerűnek tartottuk az L-adenozin-5'-difoszfátot félpreparatív HPLC-vel is tisztítani. A tisztítást Nucleosil 100 (100 A pórusméretű) C18 töltetű (Knauer G) oszlopon végezzük NH₄OAc vizes oldatával (A: 0.1 M, B: 1.0 M) eluálva (5-50 B%, 30 p) lineáris gradiens mellett (t_R (L-ATP)=4.8 perc, t_R (L-ADP)=11.3 perc, t_R (L-AMP)=13.9 perc).

6.17 Az L-uridin előállítása Vorbrüggen kapcsolással

2',3',5'-Tri-*O*-benzoil-L-uridin (42)

A **76** származékot (200 mg, 0.42 mmol) 1,2-diklóretánban (5 mL) oldjuk, majd hozzáadjuk az uracilt (52 mg, 0.46 mmol), a BSA reagenst (225 µL, 0.93 mmol) és a reakcióelegyet argon atmoszféra alatt 1 órát szobahőmérsékleten kevertetjük. A kapott oldathoz TMSOTf reagenst (76 µL, 0.42 mmol) csepegtetünk, és az elegyet 18 órát refluxoltatjuk. A reakció befejeződése után 1,2-diklóretánnal (20 mL) hígítjuk az elegyet majd telített NaHCO₃ oldattal (2x10 mL) valamint vízzel (2x10 mL) mossuk. A szerves fázist szárítjuk (Na₂SO₄) majd az oldószert lepároljuk. A bepárlási maradék tisztítását szilikagél kromatográfiával (15 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) végezve nyerjük a **42** terméket (159 mg, 68 %). Op.: 140-142 °C, R_f (DCM:MeOH, 19:1) 0.28. ESI MS *m/z* számolt (C₃₀H₂₄N₂O₉)=556.5, mért: [M+H]⁺=557.5.

L-Uridin (41)

A **42** vegyület (159 mg, 0.28 mmol) védőcsoportjainak eltávolításával (6.4 fejezet) és a kapott nyers termék szilikagél kromatográfiás tisztításával (15 g szilikagél, DCM→DCM:MeOH, 9:1) nyerjük a **41** terméket (64 mg, 94 %). Op.: 167-170 °C, R_f (DCM:MeOH, 4:1) 0.40, ESI MS *m/z* számolt (C₉H₁₂N₂O₆)=244.2, mért: [M+H]⁺=245.1. Az anyag spektrális adatai megegyeztek a már korábban előállított **41** vegyületével.

7. Irodalomjegyzék

1. Milroy, D.; Featherstone, J., *Nature Reviews Drug Discovery* **2002**, *1*, 11-12.
2. De Clercq, E., *Current Opinion in Virology* **2012**, *2*, 5, 572-579.
3. Littler, E.; Oberg, B., *Antiviral Chemistry and Chemotherapy* **2005**, *16*, 3, 155-168.
4. Smejkal, J.; Sorm, F., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1964**, *29*, 2809-2813.
5. Schinazi, R. F.; Chu, C. K.; Peck, A.; McMillan, A.; Mathis, S.; Cannon, D.; Jeong, L. S.; Beach, J. W.; Choi, W. B.; Yeola, S.; Liotta, D. C., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 3, 672-676.
6. Cameron, J. M.; Collins, P.; Daniel, M.; Storer, R., *Drugs Fut.* **1993**, *18*, 319-323.
7. Jarvis, B.; Faulds, D., *Drugs* **1999**, *58*, 1, 101-141.
8. Mathé, C.; Gosselin, G., *Antiviral Res.* **2006**, *71*, 2-3, 276-281.
9. Gero, A. M.; Dunn, C. G.; Brown, D. M.; Pulenthiran, K.; Gorovits, E. L.; Bakos, T.; Weis, A. L., *Curr. Pharm. Design* **2003**, *9*, 11, 867-877.
10. Gourdeau, H.; Leblond, L.; Hamelin, B.; Dong, K.; Ouellet, F.; Boudreau, C.; Custeau, D.; Richard, A.; Gilbert, M. J.; Jolivet, J., *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 22, 7692-7702.
11. Victor A. Bloomfield, V. A.; Crothers, D. M.; Tinoco, I. J., *Nucleic Acids - Structures, Properties and Functions*. University Science Books: Sausalito, 2000; p 794.
12. Straub, F. B., *Biokémia*. Medicina könyvkiadó: Budapest, 1958; p 600.
13. Fruton, J. S., *Contrasts in scientific style: research groups in the chemical and biochemical sciences*. American Philosophical Society: Philadelphia, 1990; Vol. 191, p 473.
14. Bálint, M., *Molekuláris biológia*. Műszaki Könyvkiadó: Budapest, 2000; Vol. 1-2, p 207.
15. Fischer, E.; Helferich, B., *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 1, 210-235.
16. Baddiley, J.; Todd, A. R., *J. Chem. Soc.* **1947**, 648-651.
17. Chargaff, E.; Zamenhof, S.; Green, C., *Nature* **1950**, *165*, 4202, 756-757.
18. Watson, J. D.; Crick, F. H. C., *Nature* **1953**, *171*, 4356, 737-738.
19. Lindequist, U.; Niedermeyer, T. H. J.; Jülich, W. D., *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2005**, *2*, 3, 285-299.
20. Schnitzler, P.; Schön, K.; Reichling, J., *Pharmazie* **2001**, *56*, 4, 343-347.
21. Bishop, N. E., *Intervirology* **1998**, *41*, 6, 261-271.
22. Almela, M. J.; González, M. E.; Carrasco, L., *J. Virol.* **1991**, *65*, 5, 2572-2577.
23. Beringer, P.; Troy, D. A.; Remington, J. P., *Remington, the science and practice of pharmacy*. Lippincott Williams & Wilkins: 2006; p 1419.
24. Elion, G. B.; Furman, P. A.; Fyfe, J. A.; Miranda, P.; Beauchamp, L.; Schaeffer, H. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 12, 5716-5720.
25. Szabolcs, A.; Sági, J.; Ötvös, L., *J. Carbohydrates Nucleosides, Nucleotides* **1975**, *2*, 3, 197-211.
26. Sági, J.; Szabolcs, A.; Szemző, A.; Ötvös, L., *Nucleic Acids Res.* **1986**, *14*, 8, 3449-3462.
27. Roush, W., *Science* **1997**, *276*, 5316, 1192-1193.
28. Grillone, L. R.; Lanz, R., *Drugs Today* **2001**, *37*, 4, 245-255.
29. Perry, C. M.; Balfour, J. A., *Drugs* **1999**, *57*, 3, 375-381.
30. Stein, D. A.; Skilling, D. E.; Iversen, P. L.; Smith, A. W., *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2001**, *11*, 5, 317-325.
31. Deas, T. S.; Binduga-Gajewska, I.; Tilgner, M.; Ren, P.; Stein, D. A.; Moulton, H. M.;

- Iversen, P. L.; Kauffman, E. B.; Kramer, L. D.; Shi, P. Y., *J. Virol.* **2005**, *79*, 8, 4599-4609.
32. Kinney, R. M.; Huang, C. Y. H.; Rose, B. C.; Kroeker, A. D.; Dreher, T. W.; Iversen, P. L.; Stein, D. A., *J. Virol.* **2005**, *79*, 8, 5116-5128.
33. McCaffrey, A. P.; Meuse, L.; Karimi, M.; Contag, C. H.; Kay, M. A., *Hepatology* **2003**, *38*, 2, 503-508.
34. Neuman, B. W.; Stein, D. A.; Kroeker, A. D.; Paulino, A. D.; Moulton, H. M.; Iversen, P. L.; Buchmeier, M. J., *J. Virol.* **2004**, *78*, 11, 5891-5899.
35. Anderson, J.; Schiffer, C.; Lee, S. K.; Swanstrom, R., *Handb Exp Pharmacol.* **2009**, *189*, 189, 85-110.
36. Odani, S.; Tominaga, K.; Kondou, S., *Eur. J. Biochem.* **1999**, *262*, 3, 915-923.
37. Suzuki, H.; Okubo, A.; Yamazaki, S.; Suzuki, K.; Mitsuya, H.; Toda, S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *160*, 1, 367-373.
38. Sodeik, B.; Griffiths, G.; Ericsson, M.; Moss, B.; Doms, R. W., *J. Virol.* **1994**, *68*, 2, 1103-1114.
39. Tőke, L.; Szeghy, L., *Gyógyszerkémia*. Tankönyvkiadó: Budapest, 1992; Vol. 1-2, p 1216.
40. Levenberg, B.; Melnick, I.; Buchanan, J. M., *J. Biol. Chem.* **1957**, *225*, 1, 163-176.
41. Adamson, R. H., *Nature* **1968**, *217*, 5130, 751-752.
42. Crathorn, A. R.; Roberts, J. J., *Nature* **1966**, *211*, 5045, 150-153.
43. Brookes, P.; Lawley, P. D., *J. Chem. Soc.* **1961**, *1961*, 3923-3928.
44. Chang, C. N.; Doong, S. L.; Zhou, J. H.; Beach, J. W.; Jeong, L. S.; Chu, C. K.; Tsai, C. H.; Cheng, Y. C. D.; Liotta, R. S., *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 20, 13938-13942.
45. Schinazi, R. F.; McMillan, A.; Cannon, D.; Mathis, R.; Lloyd, R. M.; Peck, A.; Sommadossi, J. P.; St.Clair, M.; Wilson, J.; Furman, P. A.; Painter, G.; Choi, W. B.; Liotta, D. C., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 11, 2423-2431.
46. Grant, R. M.; Lama, J. R.; Anderson, P. L.; McMahan, V.; Liu, A. Y.; Vargas, L.; Goicochea, P.; Casapía, M.; Guanira-Carranza, J. V.; Ramirez-Cardich, M. E.; Montoya-Herrera, O.; Fernández, T.; Veloso, V. G.; Buchbinder, S. P.; Chariyalertsak, S.; Schechter, M.; Bekker, L. G.; Mayer, K. H.; Kallás, E. G.; Amico, K. R.; Mulligan, K.; Bushman, L. R.; Hance, R. J.; Ganoza, C.; Defechereux, P.; Postle, B.; Wang, F.; McConnell, J. J.; Zheng, J. H.; Lee, J.; Rooney, J. F.; Jaffe, H. S.; Martinez, A. I.; Burns, D. N.; Glidden, D. V., *New Engl. J. Med.* **2010**, *363*, 27, 2587-2599.
47. Chen, S. H., *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 9, 899-912.
48. Asif, G.; Hurwitz, S. J.; Gumina, G.; Chu, C. K.; McClure, H. M.; Schinazi, R. F., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 2, 560-564.
49. Spadari, S.; Maga, G.; Focher, F.; Ciarrochi, G.; Manservigi, R.; Arcamone, F.; Capobianco, M.; Carcuro, A.; Colonna, F.; Iotti, S.; Garbesi, A., *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 22, 4214-4220.
50. Gosselin, G.; Pierra, C.; Benzaria, S.; Dukhan, D.; Imbach, J. L.; Loi, A. G.; LaColla, P.; Cretton-Scott, E.; Bridges, E. G.; Standing, D.; Sommadossi, J. P., *Frontiers in Nucleosides and Nucleic Acids*. . Schinazi, R.F., Liotta, D.C. ed.; IHL Press, : Tucker, Georgia) 2004.
51. Biron, K. K.; Harvey, R. J.; Chamberlain, S. C.; Good, S. S.; Smith III, A. A.; Davis, M. G.; Talarico, C. L.; Miller, W. H.; Ferris, R.; Dornsife, R. E.; Stanat, S. C.; Townsend, L. B.; Koszalska, G. W., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 8, 2365-2372.
52. Gershburg, E.; Pagano, J. S., *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *56*, 2, 277-281.
53. Kim, H. O.; Schinazi, R. F.; Shanmuganathan, K.; Jeong, L. S.; Beach, J. W.; Nampalli, S.; Cannon, D. L.; Chu, C. K., *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 5, 519-528.

54. Grove, K. L.; Guo, X.; Liu, S. H.; Gao, Z.; Chu, C. K.; Cheng, Y. C., *Cancer Res.* **1995**, *55*, 14, 3008-3011.
55. Swords, R.; Giles, F., *Hematology* **2007**, *12*, 3, 219-227.
56. Miyaki, M.; Shimizu, B., *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, *18*, 7, 1446-1456.
57. Kazimierczuk, Z.; Cottam, H. B.; Revankar, G. R.; Robins, R. K., *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 21, 6379-6382.
58. Diekmann, E.; Friedrich, K.; Fritz, H. G., *J. Prakt. Chem.* **1993**, *335*, 5, 415-424.
59. Vorbrüggen, H.; Lagoja, I. M.; Herdewijn, P., *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* John Wiley & Sons Inc.: 2006; Vol. 1.13 fejezet.
60. Bennua-Skalmowski, B.; Krolikiewicz, K.; Vorbrüggen, H., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 43, 7845-7848.
61. Wittenburg, E., *Zeitschrift fuer Chemie* **1964**, *4*, 303-304.
62. Prystas, M.; Šorm, F., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1964**, *29*, 121-129.
63. Choi, W. B.; Wilson, L. J.; Yeola, S.; Liotta, D. C.; Schinazi, R. F., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 24, 9377-9379.
64. Vorbrüggen, H.; Niedballa, U.; Krolikiewicz, K.; Bennua, B.; Höfle, G., *Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides*. Academic ed.; New York, 1978; p 251.
65. Sugiura, Y.; Furuya, S.; Furukawa, Y., *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 9, 3253-3256.
66. Holy, A., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1972**, *37*, 12, 4072-4086.
67. Holy, A., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1973**, *38*, 2, 423-427.
68. Prystas, M.; Sorm, F., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1964**, *29*, 2956-2970.
69. Nakayama, C.; Saneyoshi, M., *Nucleosides and Nucleotides* **1982**, *1*, 2, 139-146.
70. Saneyoshi, M.; Inomata, M.; Fukuoka, F., *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, *26*, 10, 2990-2997.
71. Yung, N. C.; Burchenal, J. H.; Fecher, R.; Duschinsky, R.; Fox, J. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 19, 4060-4065.
72. Montgomery, J. A.; Thomas, H. J., *J. Heterocyclic Chem.* **1979**, *16*, 2, 353-356.
73. Griffon, J. F. Mathé, C.; Faraj, A.; Aubertin, A. M.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Sommadossi, J. P. Gosselin, G., *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 5, 447-460.
74. Shi, Z. S.; Yang, B. H.; Wu, Y. L., *Tetrahedron* **2002**, *58*, 16, 3287-3296.
75. Schwarz, B.; Cech, D.; Holy, A.; Skoda, J., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1980**, *45*, 11, 3217-3230.
76. Mercer, J. R.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I., *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 4, 670-675.
77. Stavber, S.; Zupan, M., *Tetrahedron* **1990**, *46*, 8, 3093-3100.
78. Robins, M. J.; Naik, S. R., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 20, 5277-5278.
79. Robins, M. J.; MacCoss, M.; Naik, S. R.; Ramani, G., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 23, 7381-7389.
80. Wempfen, F.; Zorbach, W. W.; Tipson, R. S., *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry*. 1968; Vol. 1, p 299.
81. Visser, G. W. M.; Herder, R. E.; Noordhuis, P.; Zwaagstra, O.; Herscheid, J. D. M.; De Kanter, F. J. J., *J. Chem. Soc., Perkin Transactions 1: Org. and Bio-Organic Chem.* **1988**, *9*, 2547-2554.
82. Yu, C. S.; Chiang, L. W.; Wu, C. H.; Hsu, Z. K.; Lee, M. H.; Pan, S. D.; Pei, K., *Synthesis* **2006**, *2006*, 22, 3835-3840.
83. Schmidt, S.; Pein, C. D.; Fritz, H. J.; Cech, D., *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 10, 2421-2426.
84. Fox, J. J.; Miller, N.; Wempfen, I., *J. Med. Chem.* **1966**, *9*, 1, 101-105.
85. Gosselin, G.; Bergogne, M. C.; De Rudder, J.; De Clercq, E.; Imbach, J. L., *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2, 203-213.
86. Robins, M. J.; Mullah, K. B.; Wnuk, S. F.; Dalley, N. K., *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 8, 2357-2364.

87. Sung, W. L., *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 19, 3623-3628.
88. Krug, A.; Schmidt, S.; Lekschas, J.; Lemke, K.; Cech, D., *J. Prakt. Chem.* **1989**, 331, 5, 835-842.
89. West, R. A.; Barret, H. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 12, 3146-3148.
90. Pal, B. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 16, 5170-5174.
91. Kikugawa, K.; Kawada, I.; Ichino, M., *Chem Pharm. Bull.* **1975**, 23, 1, 35-40.
92. Russell, A. F.; Prystasz, M.; Hamamura, E. K.; Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G., *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 15, 2182-2186.
93. Johar, M.; Manning, T.; Tse, C.; Desroches, N.; Agrawal, B.; Kunimoto, D. Y.; Kumar, R., *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 15, 3696-3705.
94. Fukuhara, T. K.; Visser, D. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 9, 2393-2395.
95. Robins, M. J.; Barr, P. J.; Giziewicz, J., *Can. J. Chem.* **1982**, 60, 5, 554-557.
96. Kumar, V.; Wiebe, L. I.; Knaus, E. E., *Can. J. Chem.* **1994**, 72, 9, 2005-2010.
97. Kumar, V.; Yap, J.; Muroyama, A.; Malhotra, S. V., *Synthesis* **2009**, 2009, 23, 3957-3962.
98. Kumar, V.; Malhotra, S. V., *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2009**, 28, 9, 821-834.
99. Asakura, J. I.; Robins, M. J., *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 16, 4928-4933.
100. ALNYLAM PHARMACEUTICALS WO2009/120878 A2, 2009.
101. Kanai, T.; Maruyama, O., *J. Carbohydrates, Nucleosides, Nucleotides* **1976**, 3, 1-2, 25-46.
102. Levene, P. A.; La Forge, F. B., *Chem. Ber.* **1912**, 45, 1, 608-620.
103. Beltz, R. E.; Visser, D. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 3, 736-738.
104. Visser, D. W., *In Synthetic procedures in nucleic acid chemistry*. Wiley: New York, 1938; Vol. 1, p 409.
105. Duval, J.; Ebel, J. P., *Bull. Soc. Chim. Biol.* **1964**, 46, 1059-1071.
106. Lin, T. S.; Yang, J. H.; Liu, M. C.; Shen, Z. Y.; Cheng, Y. C.; Prusoff, W. H.; Birnbaum, G. I.; Giziewicz, J.; Ghazzouli, I.; Brankovan, V.; Feng, J. S.; Hsiung, G. D., *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2, 693-701.
107. Sessler, J. L.; Wang, B.; Harriman, A., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 2, 704-714.
108. Matsuda, A.; Inoue, H.; Ueda, T., *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, 26, 8, 2340-2345.
109. Frisch, D. M.; Visser, D. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 7, 1756-1758.
110. Rayala, R.; Wnuk, S. F., *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 26, 3333-3336.
111. Ross, S. A.; Burrows, C. J., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 16, 2805-2808.
112. Schinazi, R. F.; Chen, M. S.; Prusoff, W. H., *J. Med. Chem.* **1979**, 22, 10, 1273-1277.
113. Mourier, N. S.; Eleuteri, A.; Hurwitz, S. J.; Tharnish, P. M.; Schinazi, R. F., *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 12, 2759-2766.
114. Chang, P. K.; Welch, A. D., *J. Med. Chem.* **1963**, 6, 4, 428-430.
115. Maruyama, T.; Sato, S.; Honjo, M., *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, 30, 8, 2688-2697.
116. Robins, M. J.; Manfredini, S.; Wood, S. G.; Wanklin, R. J.; Rennie, B. A.; Sacks, S. L., *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 7, 2275-2280.
117. Zhang, Y.; Dai, X.; Kallmes, D. F.; Pan, D., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 47, 8673-8676.
118. Sy, W. W., *Synth. Comm.* **1990**, 20, 21, 3391-3394.
119. Lin, T. S.; Gao, Y. S., *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 4, 598-601.
120. Lin, T. S.; Luo, M. Z.; Liu, M. C., *Tetrahedron* **1995**, 51, 4, 1055-1068.
121. Moffatt, J. G.; Verheyden, J. P. H.; Wagner, D., *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 2, 250-254.
122. Paolini, L.; Petricci, E.; Corelli, F.; Botta, M., *Synthesis* **2003**, 2003, 7, 1039-1042.
123. Prystas, M.; Sorm, F., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1964**, 29, 2956-2964.
124. Stille, K. J., *Angewandte Chem. Int. Ed.* **1986**, 25, 6, 508-524.
125. Mitchell, N. T., *Synthesis* **1992**, 1992, 9, 803-815.

126. Faigl, F.; Kollár, L.; Kotschy, A.; Szepes, L., *Szerves fémvegyületek kémiája*. Nemzeti Tankönyvkiadó: Budapest, 2001; p 448.
127. Malm, J.; Bjoerk, P.; Gronowitz, S.; Hoernfeldt, A. B., *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 16, 2199-2202.
128. Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I.; Saito, Y., *Chem. Rev.* **2003**, 103, 5, 1875-1916.
129. Wigerinck, P.; Pannecouque, C.; Snoeck, R.; Claes, P.; De Clercq, E.; Herdewijn, P., *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 8, 2383-2389.
130. Miyaura, N.; Suzuki, A., *Chem. Rev.* **1995**, 95, 7, 2457-2483.
131. Mizuta, M.; Banba, J. I.; Kanamori, T.; Tawarada, R.; Ohkubo, A.; Sekine, M.; Seio, K., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 30, 9622-9623.
132. Watanabe, K. A.; Su, T. L.; Klein, R. S.; Chu, C. K.; Matsuda, A.; Chun, M. W.; Lopez, C.; Fox, J. J., *J. Med. Chem.* **1983**, 26, 2, 152-156.
133. Peters, D.; Hörnfeldt, A. B.; Gronowitz, S.; Johansson, N. G., *Nucleosides and Nucleotides* **1992**, 11, 6, 1151-1173.
134. Trost, B. M.; Kuo, G. H.; Benneche, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2, 621-622.
135. Popescu, A.; Hoernfeldt, A. B.; Gronowitz, S., *Nucleosides and Nucleotides* **1995**, 14, 6, 1233-1250.
136. Uenishi, J.; Beau, J. M.; Armstrong, R. W.; Kishi, Y., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 15, 4756-4758.
137. Peters, D.; Hoernfeldt, A. B.; Gronowitz, S., *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, 27, 7, 2165-2173.
138. Kirschenheuter, G. P.; Zhai, Y.; Pieken, W. A., *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 46, 8517-8520.
139. Glinski, R. P.; Khan, M. S.; Kalamas, R. L.; Sporn, M. B., *J. Org. Chem.* **1973**, 38, 25, 4299-4305.
140. Hrebabecky, H.; Holy, A., *Carb. Res.* **1991**, 216, 179-186.
141. Cao, X.; Pfeleiderer, W., *Nucleosides and Nucleotides* **1994**, 13, 1-3, 773-798.
142. Vasil'eva, S. V.; Abramova, T. V.; Ivanova, T. M.; Shishkin, G. V.; Sil'nicov, V. N., *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2004**, 30, 3, 234-241.
143. Yoneda, N., *Tetrahedron* **1991**, 47, 29, 5329-5365.
144. Reif, B.; Wittmann, V.; Schwalbe, H.; Griesinger, C.; Wörner, K.; Hofmann, K. J.; Engels, J. W.; Bermel, W., *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 6, 1952-1971.
145. Mengel, R.; Guschlbauer, W., *Angewandte Chem. Int. Ed.* **1978**, 17, 7, 525.
146. Abrams, D. N.; Mercer, J. R.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I., *Int. J. Appl. Radioact. Isotopes* **1985**, 36, 3, 233-238.
147. Codington, J. F.; Doerr, I. L.; Fox, J. J., *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 3, 558-564.
148. Codington, J. F.; Doerr, I. L.; Van Praag, D.; Bendich, A.; Fox, J. J., *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 24, 5030-5031.
149. Abrams, D. N.; Knaus, E. E.; Mercer, J. R.; Wiebe, L. I., *J. Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **1979**, 16, 1, 12.
150. Hayakawa, H.; Takai, F.; Tanaka, H.; Miyasaka, T.; Yamaguchi, K., *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38, 5, 1136-1139.
151. Kawasaki, A. M.; Casper, M. D.; Freier, S. M.; Lesnik, E. A.; Zounes, M. C.; Cummins, L. L.; Gonzalez, C.; Cook, P. D., *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 7, 831-841.
152. Ikehara, M.; Imura, J., *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29, 4, 1034-1038.
153. Shi, J.; Du, J.; Ma, T.; Pankiewicz, K. W.; Patterson, S. E.; Tharnish, P. M.; McBrayer, T. R.; Stuyver, L. J.; Otto, M. J.; Chu, C. K.; Schinazi, R. F.; Watanabe, K. A., *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 5, 1641-1652.
154. Tann, C. H.; Brodfuehrer, P. R.; Brundidge, S. P.; Sapino, C. J.; Howell, H. G., *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 19, 3644-3647.

155. Mangner, T. J.; Klecker, R.; Anderson, L.; Shields, A., *J. Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **2001**, *44*, S1, S912-S914.
156. Reichman, U.; Watanabe, K. A.; Fox, J. J., *Carbohydrate Res.* **1975**, *42*, 2, 233-240.
157. Sato, Y.; Utsumi, K.; Maruyama, T.; Kimura, T.; Yamamoto, I.; Richman, D. D., *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 3, 595-598.
158. Williams, D. M.; Benseler, F.; Eckstein, F., *Biochem.* **1991**, *30*, 16, 4001-4009.
159. Choi, Y.; Li, L.; Grill, S.; Gullen, E.; Lee, C. S.; Gumina, G.; Tsujii, E.; Cheng, Y. C.; Chu, C. K., *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 13, 2538-2546.
160. Wang, Q.; Hu, W.; Wang, S.; Pan, Z.; Chang, J.; Tao, L.; Guo, X.; Qian, K.; Lee, K. H.; Chen, C. H., *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 9, 4178-4183.
161. Martin, J. A.; Bushnell, D. J.; Duncan, I. B.; Dunsdon, S. J.; Hall, M. J.; Machin, P. J.; Merrett, J. H.; Parkes, K. E. B.; Roberts, N. A., *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 8, 2137-2145.
162. Howell, H. G.; Brodfuehrer, P. R.; Brundidge, S. P.; Benigni, D. A.; Sapino, C. J., *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1, 85-88.
163. Watanabe, K. A.; Reichman, U.; Hirota, K.; Lopez, C.; Fox, J. J., *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 2, 21-24.
164. Srivastav, N. C.; Shakya, N.; Mak, M.; Kumar, R.; Agrawal, B.; Tyrrell, D. L., *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 19, 7156-7166.
165. Van Poecke, S.; Barrett, M. O.; Santhosh Kumar, T.; Sinnaeve, D.; Martins, J. C.; Jacobson, K. A.; Kendall Harden, T.; Van Calenbergh, S., *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 7, 2304-2315.
166. Hrebabecky, H.; Holy, A., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1993**, *58*, 2, 409-420.
167. Kondo, K.; Adachi, T.; Inoue, I., *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 18, 2995-2999.
168. Saneyoshi, H.; Okamoto, I.; Masaki, Y.; Ohkubo, A.; Seio, K.; Sekine, M., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 48, 8554-8557.
169. Pragnacharyulu, P. V. P.; Vargeese, C.; McGregor, M.; Abushanab, E., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 10, 3096-3099.
170. Marumoto, R.; Honjo, M., *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 1, 128-134.
171. Rao, A. V. R.; Gurjar, M. K.; Lalitha, S. V. S., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1994**, *1994*, 10, 1255-1256.
172. Cech, D.; Holý, A., *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1976**, *41*, 11, 3335-3342.
173. Shannahoff, D. H.; Sanchez, R. A., *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 3, 593-598.
174. Sawai, H.; Nakamura, A.; Sekiguchi, S.; Yumoto, K.; Endoh, M.; Ozaki, H., *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1994**, *17*, 1997-1998.
175. Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G., *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 14, 2289-2299.
176. Aoyama, Y.; Sekine, T.; Iwamoto, Y.; Kawashima, E.; Ishido, Y., *Nucleosides and Nucleotides* **1996**, *15*, 1-3, 733-738.
177. Holy, A., *Tetrahedron Lett.* **1971**, *12*, 2, 189-192.
178. Robins, M. J.; Wnuk, S. F.; Hernandez-Thirring, A. E.; Samano, M. C., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 46, 11341-11348.
179. Sukeda, M.; Shuto, S.; Sugimoto, I.; Ichikawa, S.; Matsuda, A., *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 26, 8988-8996.
180. Brown, D. M.; Parihar, D. B.; Reese, C. B.; Todd, A., *J. Chem. Soc.* **1958**, 3035-3038.
181. Gondeau, C.; Chaloin, L.; Lallemant, P.; Roy, B.; Périgaud, C.; Barman, T.; Varga, A.; Vas, M.; Lionne, C.; Arold, S. T., *Nucleic Acids Res.* **2008**, *36*, 11, 3620-3629.
182. Yoshikawa, M.; Kato, T.; Takenishi, T., *Tetrahedron Lett.* **1967**, *8*, 50, 5065-5068.
183. Khorana, H. G., *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 13, 3517-3522.
184. Chambers, R. W.; Khorana, H. G., *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 14, 3749-3752.
185. Manfredini, S.; Baraldi, P. G.; Durini, E.; Vertuani, S.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Karlsson, A.; Buzzoni, V.; Thelander, L., *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 17, 3243-3250.

186. Davisson, V. J.; Davis, D. R.; Dixit, V. M.; Poulter, C. D., *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 9, 1794-1801.
187. Dixit, V. M.; Poulter, C. D., *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 37, 4055-4058.
188. Lee, A. M.; Ross, C. T.; Zeng, B. B.; Singleton, S. F., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 17, 5408-5411.
189. Chase, B. H.; Kenner, G. W.; Todd, A. R.; Webb, R. F., *J. Chem. Soc.* **1956**, 1371-1376.
190. Deagranges, C.; Razaka, G.; Drouillet, F.; Bricaud, H.; Herdewijn, P.; De Clercq, E., *Nucleic Acids Res.* **1984**, *12*, 4, 2081-2110.
191. Wigerinck, P.; Kerremans, L.; Claes, P.; Snoeck, R.; Maudgal, P.; De Clercq, E.; Herdewijn, P., *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 5, 538-543.
192. Pigneux, A.; Perreau, V.; Jourdan, E.; Vey, N.; Dastugue, N.; Huguet, F.; Sotto, J. J.; Salmi, L. R.; Ifrah, N.; Reiffers, J., *Haematologica* **2007**, *92*, 10, 1327-1334.
193. Deville-Bonne, D.; El Amri, C.; Meyer, P.; Chen, Y.; Agrofoglio, L. A.; Janin, J., *Antiviral Res.* **2010**, *86*, 1, 101-120.
194. Maury, G., *Antiviral Chemistry and Chemotherapy* **2000**, *11*, 3, 165-189.
195. Sabini, E.; Hazra, S.; Konrad, M.; Burley, S. K.; Lavie, A., *Nucleic Acids Res.* **2007**, *35*, 1, 186-192.
196. Sabini, E.; Hazra, S.; Konrad, M.; Lavie, A., *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 13, 3004-3014.
197. Sandrini, M. P.; Piskur, J., *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 5, 225-228.
198. Johansson, K.; Ramaswamy, S.; Ljungcrantz, C.; Knecht, W.; Piskur, J.; Munch-Petersen, B.; Eriksson, S.; Eklund, H., *Nat. Struct. Biol.* **2001**, *8*, 7, 616-620.
199. Liou, J. Y.; Dutschman, G. E.; Lam, W.; Jiang, Z.; Cheng, Y. C., *Cancer Res.* **2002**, *62*, 6, 1624-1631.
200. Alexandre, J. A.; Roy, B.; Topalis, D.; Pochet, S.; Périgaud, C.; Deville-Bonne, D., *Nucleic Acids Res.* **2007**, *35*, 14, 4895-4905.
201. Gonin, P.; Xu, Y.; Milon, L.; Dabernat, S.; Morr, M.; Kumar, R.; Lacombe, M. L.; Janin, J.; Lascu, I., *Biochemistry* **1999**, *38*, 22, 7265-7272.
202. Krishnan, P.; Fu, Q.; Lam, W.; Liou, J. Y.; Dutschman, G.; Cheng, Y. C., *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 7, 5453-5459.
203. Gallois-Montbrun, S.; Faraj, A.; Seclaman, E.; Sommadossi, J. P.; Deville-Bonne, D.; Veron, M., *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 9, 1749-1756.
204. Varga, A.; Chaloin, L.; Sági, G.; Sendula, R.; Grácz, É.; Liliom, K.; Závodszky, P.; Lionne, C.; Vas, M., *Mol. Biosystems* **2011**, *7*, 6, 1863-1873.
205. McGuigan, C.; Pathirana, R. N.; Snoeck, R.; Andrei, G.; De Clercq, E.; Balzarini, J., *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 7, 1847-1851.
206. Griffon, J. F.; Mathe, C.; Faraj, A.; Aubertin, A. M.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Sommadossi, J. P.; Gosselin, G., *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 5, 447-460.
207. Liu, T. S.; Luo, M. Z.; Liu, M. C., *Nucleosides and Nucleotides* **1994**, *13*, 9, 1861-1870.
208. Ryu, E. K.; MacCoss, M., *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 13, 2819-2823.
209. Kanai, T.; Ichino, M., *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 12, 1218-1221.
210. Visser, G. M.; Van Westrenen, J.; Van Boeckel, C. A. A.; Van Boom, J. H., *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1986**, *105*, 12, 528-537.
211. Cimpioia, A. R.; Hunter, P. J.; Evans, C. A.; Jin, H.; Breining, T.; Mansour, T. S., *J. Carbohydrate Chemistry* **1994**, *13*, 8, 1115-1120.
212. Discordia, R. P., *J. Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **1996**, *38*, 7, 613-624.
213. Forsman, J. J.; Leino, R.; Waerna, J.; Murzin, D. Y., *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *32*, 5666-5676.

- 214. Varga, A.; Szabó, J.; Flachner, B.; Roy, B.; Konarev, P.; Svergun, D.; Závodszky, P.; Périgaud, C.; Barman, T.; Lionne, C.; Vas, M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, 366, 4, 994-1000.
- 215. Anderson, K. S., *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1587, 2-3, 296-299.
- 216. Slater, T. F.; Sawyer, B.; Strauli, U., *Biochim. Biophys. Acta* **1963**, 77, 383-393.
- 217. Chaikovskii, V. K.; Skorokhodov, V. I.; Filimonov, V. D., *Russ. J. Org. Chem.* **2001**, 37, 10, 1503-1504.
- 218. Miyaura, N.; Suzuki, A., *Org. Synth.* **1990**, 68, 130-134.

8. Az értekezés alapjául szolgáló cikkek

1. Andrea Varga, Laurent Chaloin, Gyula Sági, Róbert Sendula, Éva Gráczer, Károly Liliom, Péter Závodszky, Corinne Lionne, Mária Vas: Nucleotide promiscuity of 3-phosphoglycerate kinase in focus: implications for the design of better anti-HIV analogues. *Molecular Biosystems*, **2011**, 7, 1863-1873.

2. Róbert Sendula, Erika Orbán, Ferenc Hudecz, Gyula Sági, István Jablonkai: Synthesis and Cytotoxic Activity of Novel 5-Substituted-1-(β -L-Arabinofuranosyl) Pyrimidine Nucleosides, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2012**, 31, 6, 482-500.

9. Rövidítések jegyzéke

A	- adenzin
Ac	- acetyl
AcOF	- acetyl-hipofluorit
AcOH	- ecetsav
ADP	- adenzin-5'-difoszfát
AMP	- adenzin-5'-monofoszfát
ATP	- adenzin-5'-trifoszfát
AIBN	- 2,2-azobiszizobutironitril
AIDS	- szerzett immunhiányos tünetegyüttes (Acquired Immune Deficiency Syndrome)
AZT	- zidovudine
BSA	- <i>N,O</i> -bis-trimetilszilil-acetamid
Bz	- benzoil
Bz-Cl	- benzoil-klorid
C	- citidin
CAN	- cérium(IV)-ammóniumnitrát
CDI	- 1,1'-karbonildiimidazol
CEM	- humán T-sejt vonal
CHARMM	- Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics program
CK	- kreatin kináz
CMP	- citidin-5'-monofoszfát
CMV	- citomegalovírus
CoA	- koenzim A
DAST	- dietilamino-kéntrifluorid
DCC	- <i>N,N'</i> -diciklohexil-karbodiimid
DCE	- 1,2-diklóretán
dCK	- dezoxicitidin kináz
DCM	- diklórmétán
DEAE	- dietil-amino-etyl
DHP	- 1,2-dihidrodopirán
(S)-DHPA	- (S)-9-(2,3-dihidroxipropil)-adenin
DMA	- <i>N,N</i> -dimetilacetamid

DMF	- <i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	- dimetilszulfoxid
DNS	- dezoxiribonukleinsav
DS-5000	- dextrán-szulfát-5000
EBV	- Epstein-Barr-vírus
EC₅₀	- 50%-ban hatásos koncentráció (effective concentration 50%)
ELISA	- enzim-immun analitikai eljárás (Enzyme-linked immunosorbent assay)
EP	- endoplazmatikus retikulum
ESI	- elektron porlasztásos ionizáció (Electron Spray Ionisation)
Et₃N	- trietilamin
EtOAc	- etilacetát
EtOH	- etanol
FAD	- flavin-adenin-dinukleotid
FC	- 5-fluor-citozin
FCS	- magzati borjú szérum (fetal calf serum)
FTC	- 5-fluor-tiocitidin (emtricitabin)
FT-IR	- Fourier transzformációs infravörös (spektroszkópia)
5-FU	- 5-fluoruracil
G	- guanidin
GDP	- guanozin-5'-difoszfát
GMP	- guanozin-5'-monofoszfát
GnRH	- Gonadotropin felszabadító hormon (Gonadotropin Releasing Hormon)
GOLD	- Genetic Optimization for Ligand Docking szoftvert
HBV	- hepatitisz B vírus
HCV	- hepatitisz C vírus
HCMV	- humán citomegalovírus
Hel	- humán eritroleukémia sejtvonal
HeLa	- méhnyakrák sejtvonal (Henrietta Lacks)
HepG2	- máj hepatocelluláris karcinóma sejtvonal (liver hepatocellular carcinoma)
HIV	- emberi immunhiány előidéző vírus (Human Immunodeficiency Virus)
HMPA	- hexametilfoszfortriamid
hPGK	- humán 3-poszforoglicerát-kináz
HPV	- humán papillóma vírus
HRMS	- nagyfelbontású tömegspektrosztópia (High Resolution Mass Spectroscopy)

HSV	- herpes simplex vírus
IC₅₀	- 50% gátló koncentráció (inhibitor concentracion 50%)
IMP	- inozin-5'-monofoszfát
L1210	- egér limfómás leukémia sejtvonal
L-CMP	- L-citidin-5'-monofoszfát
L-CDP	- L-citidin-5'-difoszfát
L-dA	- L-2'-dezoxi-adenozin
L-dC	- L-2'-dezoxi-citidin
L-d4C	- 2',3'-dideoxi-2',3'-didehidro-L-citidin
L-dG	- L-2'-dezoxi-guanozin
L-dU	- L-2'-dezoxi-uridin
L-dT	- L-2'-dezoxi-timidin
MDCK	- veserák sejtvonal (Madin-Darby Canine Kidney)
Me	- metil
MeOH	- metanol
[MoeMim][Ms]	- metoxietil-3-metilimidazolium-mezilát
6-MP	- 6-merkaptopurin
MS	- tömegspektroszkópia (mass spectroscopy)
MTT	- (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium-bromid
NADH	- nikotinamid-adenin-dinukleotid
NaOMe	- nátrium-metoxid
NBS	- <i>N</i> -bróm-szukcinimid
NCS	- <i>N</i> -klór-szukcinimid
NDPK	- nukleozid difoszfát kináz
NIS	- <i>N</i> -jód-szukcinimid
NMR	- mágneses magrezonancia (nuclear magnetic resonance)
NTP	- nukleozid trifoszfát
PBM	- human peripheral blood mononuclear sejtvonal
PGK	- 3-poszforoglicerát-kináz
PK	- piruvát kináz
<i>i</i>-PrOH	- <i>izo</i> -propanol
RNS	- ribonukleinsav
mRNS	- hírvivő (messenger) ribonukleinsav
RT	- reverz transzkriptáz

T	- timidin
TBAF	- tetrabutyl-ammónium-fluorid
3-TC	- Lamivudin (2',3'-didezoxi-3'-tia-citidin)
TDF	- tenofovir dizoproxil-fumarát
TEA	- trietil-amin
TEAB	- trietilammónium-bikarbonát
TFA	- trifluorecetsav
6-TG	- 6-tioguanin
THF	- tetrahidrofurán
THP	- tetrahidropirán
TK	- timidin kináz
TMEDA	- <i>N,N,N,N</i> -tetrametil-etiléndiamin
TMP	- timidin-5'-monofoszfát
TMPK	- timidin-5'-monofoszfát kináz
TMSOTf	- trimetilszilil-trifluormetánszulfonsav
TMV	- dohánymozaik vírus
TPDS	- 1,1,3,3-tetraizopropildisziloxa-1,3-diil
<i>p</i>-TsOH	- <i>para</i> -toluolszulfonsav
U	- uridin
UMP	- uridin-5'-monofoszfát
UMPK	- uridin-5'-monofoszfát kináz
UTP	- uridin-5'-trifoszfát
VSV	- vesicular stomatitis vírus
VZV	- varicella zoster vírus (bárányhimlő)
WNV	- nyugat-nílusi lázat okozó vírus (West Nile virus)

10. Melléklet

1. Táblázat. *A bázismódosított ara-L-nukleozidok oldhatósága dimetilszulfoxidban*

Vegyület	Oldhatóság mg/ml
3	204
6	183
8	174
10	285
12	278
14	251
16	270
18	280
20	195
22	190
24	228
26	257
28	205
30	165
32	177
34	186

2. Táblázat. *A bázismódosított ara-L-nukleozidok oldhatósága dimetilszulfoxidban.*

Vegyület	Oldhatóság mg/ml
2	143
37	210
39	344
41	185
44	210
46	245
50	156
52	190
56	128
59	140
61	263
62	250
47	133
65	230
67	555
68	200
71	268
73	290

3. Táblázat. Citotoxicitás vizsgálatok eredményei L1210, Hel, HeLa, Vero és MDCK sejtvonalakon.

Vegyület	Sejtvonalak				
	L1210 IC ₅₀ (μM)	Hel IC ₅₀ (μM)	HeLa IC ₅₀ (μM)	Vero IC ₅₀ (μM)	MDCK IC ₅₀ (μM)
2		>100	>100	>100	100
3	167,5	>100	>100	>100	100
6	>200	>100	>100	>100	100
8	>200	>100	>100	>100	>100
10	>200	>100	>100	>100	100
12	13,8	>0,8	>20	>100	100
14	99,8	>100	>100	>100	>100
16	>200	>100	>100	>100	>100
18	47,3	>100	>100	>100	100
20	>200	>100	>100	>100	100
22	>200	>100	>100	>100	100
24	>200	>100	>100	>100	100
26	189,9	>100	>100	>100	100
28	>200	>100	>100	>100	>100
30	37,6	>100	>100	>100	>100
32	>200	>100	>100	>100	100
34	>200	>100	>100	>100	>100
37		>100	>100	>100	100
39		>100	>100	>100	100
41		>100	>100	>100	100
44		>100	>100	>100	100
46		>100	>100	>100	>100
47		>100	>100	>100	100
50		>100	>100	>100	>100
52		>100	>100	>100	>100
56		>100	>100	>100	100
59		>100	>100	>100	>100
61		>100	>100	>100	>100
62		>100	>100	>100	>100
65		>100	>100	>100	>100
67		>100	>100	>100	>100
68		>100	>100	>100	100
71		>100	>100	>100	>100
72		>100	>100	>100	100
<hr/>					
FdU	<0.078				
5-FU	1,200				
Brivudin		>250			
Cidofovir		>250			
Aciklovir		>250			
Genciclovir		>100			
DS-5000			>100	>100	
(S)-DHPA			>250	>250	
Ribavirin			>250	>250	20
Zanamivir					100
Amantadin					>500
Rimantadin					500

4. Táblázat. *Antivirális vizsgálatok eredményei herpes simplex-1(KOS), herpes simplex-1(TKKOS ACV^r), herpes simplex-2 (G), vaccinia vírus és vesicular stomatitis vírustörzseken.*

Vegyület	HEL sejtvonalon				
	EC ₅₀ (μM)				
	Herpes Siplax-1 (KOS)	Herpes Siplax-1 (TK ⁻ KOS ACV ^r)	Herpes Siplax-2 (G)	Vaccinia vírus	Vesicular stomatitis vírus
2	>100	>100	>100	>100	>100
3	>100	>100	>100	>100	>100
6	>100	>100	>100	>100	>100
8	>100	>100	>100	>100	>100
10	>100	>100	>100	>100	>100
12	>0,8	>0,8	>0,8	>0,8	>0,8
14	>100	>100	>100	>100	>100
16	>100	>100	>100	>100	>100
18	>100	>100	>100	>100	>100
20	>100	>100	>100	>100	>100
22	>100	>100	>100	>100	>100
24	>100	>100	>100	>100	>100
26	>100	>100	>100	>100	>100
28	>100	>100	>100	>100	>100
30	>100	>100	>100	>100	>100
32	>100	>100	>100	>100	>100
34	>100	>100	>100	>100	>100
37	>100	>100	>100	>100	>100
39	>100	>100	>100	>100	>100
41	>100	>100	>100	>100	>100
44	>100	>100	>100	>100	>100
46	>100	>100	>100	>100	>100
47	>100	>100	>100	>100	>100
50	>100	>100	>100	>100	>100
52	>100	>100	>100	>100	>100
56	>100	>100	>100	>100	>100
59	>100	>100	>100	>100	>100
61	>100	>100	>100	>100	>100
62	>100	>100	>100	>100	>100
65	>100	>100	>100	>100	>100
67	>100	>100	>100	>100	>100
68	>100	>100	>100	>100	>100
71	100	>100	>100	>100	>100
72	>100	>100	>100	>100	>100
Brivudin	0,031	250	10	>250	50
Cidofovir	2	2	10	250	2
Acyclovir	0,18	0,4	>250	>250	10
Genciclovir	0,032	0,16	>100	>100	0,16

5. Táblázat. Antivirális vizsgálatok eredményei vesicular stomatitis, coxsackie vírus B4 respiratory syncytal vírustörzseken.

Vegyület	HeLa sejtvonalon		
	EC ₅₀ (μM)		
	Vesicular stomatitis vírus	Coxsackie vírus B4	Respiratory Syncytal vírus
2	>100	>100	100
3	>100	>100	>100
6	>100	>100	>100
8	>100	>100	>100
10	>100	>100	100
12	>20	>20	>20
14	>100	>100	>100
16	>100	>100	100
18	>100	>100	>100
20	>100	>100	>100
22	>100	>100	>100
24	>100	>100	>100
26	>100	>100	>100
28	>100	>100	>100
30	>100	>100	>100
32	>100	>100	>100
34	>100	>100	100
37	>100	>100	100
39	>100	>100	>100
41	>100	>100	>100
44	>100	>100	100
46	>100	>100	>100
47	>100	>100	100
50	>100	>100	>100
52	>100	>100	>100
56	>100	>100	100
59	>100	>100	>100
61	>100	>100	>100
62	>100	>100	100
65	>100	>100	100
67	>100	>100	>100
68	>100	>100	100
71	>100	>100	>100
72	>100	>100	>100
DS-5000	>100	>100	>100
(S)-DHPA	>250	>250	>250
Ribavirin	250	146	2

6. Táblázat. *Antivirális vizsgálatok eredményei parainfluenza-3 vírus, reovirus-1, sindbis vírus, coxsackie vírus B4 és punta toro vírustörzseken.*

Vegyület	Vero sejtvonalon				
	EC ₅₀ (μM)				
	Parainfluenza-3 vírus	Reovírus-1	Sindbis vírus	Coxsackie vírus B4	Punta Toro vírus
2	>100	>100	>100	>100	>100
3	>100	>100	>100	>100	>100
6	>100	>100	>100	>100	>100
8	>100	>100	>100	>100	>100
10	>100	>100	>100	>100	>100
12	>100	100	45	>100	100
14	>100	>100	>100	>100	>100
16	>100	>100	>100	>100	>100
18	>100	>100	>100	>100	>100
20	>100	>100	>100	>100	>100
22	>100	>100	>100	>100	>100
24	>100	>100	>100	>100	>100
26	>100	>100	>100	>100	>100
28	>100	>100	>100	>100	>100
30	>100	>100	>100	>100	>100
32	>100	>100	>100	>100	>100
34	>100	>100	>100	>100	>100
37	>100	>100	>100	>100	>100
39	>100	>100	>100	>100	>100
41	>100	>100	>100	>100	>100
44	>100	>100	>100	>100	>100
46	>100	>100	>100	>100	>100
47	>100	>100	>100	>100	>100
50	>100	>100	>100	>100	>100
52	>100	>100	>100	>100	>100
56	>100	>100	>100	>100	>100
59	>100	>100	>100	>100	>100
61	>100	>100	>100	>100	>100
62	>100	>100	>100	>100	>100
65	>100	>100	>100	>100	>100
67	>100	>100	>100	>100	>100
68	>100	>100	>100	>100	>100
71	>100	>100	>100	>100	>100
72	>100	>100	>100	>100	>100
DS-5000	>100	100	>100	>100	>100
(S)-DHPA	146	>250	>250	>250	>250
Ribavirin	29	>250	>250	>250	146

7. Táblázat. Antivirális vizsgálatok eredményei influenza-A (H1N1 altípus) vírus, influenza-A (H3N2 altípus) vírus és influenza-B vírustörzseken.

Vegyület	MDCK sejtvonalon		
	EC ₅₀ (μM)		
	Influenza A H1N1 (A/PR/8)	Influenza A H3N2 (A/HK/7/87)	Influenza B (B/HK/5/72)
2	>100	>100	>100
3	>100	>100	>100
6	>100	>100	>100
8	>100	>100	>100
10	>100	>100	>100
12	>100	>100	>100
14	>100	>100	>100
16	>100	>100	>100
18	>100	>100	>100
20	>100	>100	>100
22	>100	>100	>100
24	>100	>100	>100
26	>100	>100	>100
28	>100	>100	>100
30	>100	>100	>100
32	>100	>100	>100
34	>100	>100	>100
37	>100	>100	>100
39	>100	>100	>100
41	>100	>100	>100
44	>100	>100	>100
46	>100	>100	>100
47	>100	>100	>100
50	>100	>100	>100
52	>100	>100	>100
56	>100	>100	>100
59	>100	>100	>100
61	>100	>100	>100
62	>100	>100	>100
65	>100	>100	>100
67	>100	>100	>100
68	>100	>100	>100
71	>100	>100	>100
72	>100	>100	>100
Zanamivir	1,2	2,0	25,0
Ribavirin	11,0	16,0	13,0
Amantadine	174,0	0,5	>500
Rimantadine	5,3	0,046	>500

Összefoglalás

A doktori kutatásom céljából kitűzött antivirális és citotoxicitás szerkezet-hatás összefüggés vizsgálatokra a tervezett 34 L-nukleozidot valamint L-citidin- és L-adenozin-5'-difoszfátot állítottunk elő. A bázismódosított L-arabino-származékokat tartalmazó molekula könyvtár 16 vegyületet tartalmaz, ezek az *ara*-L-uridin, az 5-(klór/bróm/jód)-*ara*-L-uridinek, az 5-tienil-*ara*-L-uridin és annak 5-(klór/bróm/jód)-származékai, az *ara*-L-citidin, az 5-(klór/bróm/jód)-*ara*-L-citidin, az 5-tienil-*ara*-L-citidin és annak 5-klór/bróm/jód-származékai. A 13 irodalomban még nem publikált új vegyület (**6, 8, 12, 14, 16, 18, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34**) mellett 3 már ismert származékot (**3, 10, 20**) is előállítottunk a teljesebb szerkezet-hatás összefüggések vizsgálatához. A bázis- és cukorrész módosított L-ribo-származékokat tartalmazó molekula könyvtárat a 18 módosított L-uridin származék alkotja. Az L-uridinen kívül előállítottuk a 2'-deoxi-2'-azido-, 2'-fluor-, 2'-klór- és 2'-bróm származékokat. A könyvtár magába foglalja a 2,2'-anhidro-L-uridint és eddig nem előállított 5-jód és 5-tienil származékait is. Minden egyes cukorrész módosított származék esetében, beleértve a 2,2'-anhidro-uridint is, előállítottuk azok 5-jód illetve az 5-tienil bázismódosításait is. A könyvtár 11 új vegyületet (**37, 39, 46, 47, 50, 52, 61, 65, 67, 71, 72**) tartalmaz, a többi már irodalomban leírt vegyületet a pontosabb szerkezet-hatás vizsgálatok miatt állítottunk elő.

A molekulakönyvtár vegyületeivel öt daganatos sejtvonalon citotoxicitás vizsgálatokat végeztünk. A módosított *ara*-L-uridinek közül a **12** származék mutatott hatást (L1210 (IC₅₀, 13.8 µM), Hel (IC₅₀, 0.8 µM), HeLa (IC₅₀, 20 µM)). A citidinek közül a leghatásosabbak a **30** (IC₅₀, 37.6) és a **18** (IC₅₀, 47.3 µM) származékok voltak az L1210 sejtvonalon. Mindkét molekulakönyvtár vegyületeivel az antivirális hatást 14 vírustörzsön vizsgáltuk. A vegyületek többsége nem mutatott hatást egyik sejtvonalon sem. A respiratory syncytal vírustörzsön 11 vegyület (**2, 10, 16, 34, 37, 44, 47, 56, 62, 65, 68**) mutatott gyenge (EC₅₀ 100 µM) antivirális hatást. A reovirus-1 és a punta toro vírustörzseken a **12** származéknak míg a herpes simplex-1 (KOS) vírustörzsön a **71** származéknak (EC₅₀ 100 µM) volt említésre méltó hatása. A sindbis vírustörzsön szintén csak a **12** származék volt hatásos (EC₅₀ 45 µM). A legtöbb vegyület azonban nem mutatott antivirális hatást egyik vírustörzsön sem.

Kooperációs munka keretében L-adenozin- és L-citidin-5'-difoszfátot állítottunk elő a PGK-katalizált enzimreakciók vizsgálatához. Az irodalomban leírt végtermék tisztítási módszer továbbfejlesztése révén a közölt hozamokhoz képest jelentős javulás érhető el. A számítógépes dokkolási vizsgálatok és az *in vitro* kísérletek eredményei alapján az L-CDP a PGK jobb szubsztrátjának bizonyult mint a D-CDP.

Summary

Twenty-four new, so far unpublished L-nucleosides was prepared to establish antiviral and cytotoxicity structure-activity relationships. The library from the base-modified L-arabino derivatives contains 16 uridine and cytidine derivatives. The set of uridine derivatives in addition to *ara*-L-uridine includes the 5-(chloro/bromo/iodo)-L-*ara*-uridine the 5-thienyl-*ara*-L-uridine as well as its 5-chloro/5-bromo/5-iodo derivatives. While the set of cytidine derivatives in addition to *ara*-L-cytidine includes the 5-(chloro/bromo/iodo)-L-*ara*-cytidine, the 5-thienyl-*ara*-L-cytidine as well as its 5-chloro/5-bromo/5-iodo derivatives. Thirteen of unpublished L-nucleosides in this library such as **6**, **8**, **12**, **14**, **16**, **18**, **22**, **24**, **26**, **28**, **30**, **32**, **34** and 3 previously described compounds such as **3**, **10**, **20** has been subjected to structure-activity relationship studies. The other library from L-uridine derivatives was made of 18 of base- and carbohydrate-modified L-ribo-analogs. In addition to L-uridine by replacement of the 2'-hydroxy group 2'-deoxy-2'-azido, 2'-fluoro, 2'-chloro and 2'-bromo derivatives were prepared. The library also includes the 2,2'-anhydro-L-uridine and its new 5-iodo and 5-thienyl derivatives. Moreover, 5-iodo and 5-thienyl derivatives of these carbohydrate-modified nucleosides including the L-uridine and the anhydro analogs were also synthesized. This library therefore consists of 11 new L-nucleosides such as **37**, **39**, **46**, **47**, **50**, **52**, **61**, **65**, **67**, **71**, **73** compounds and 4 previously published derivatives required for the structure-activity relationship studies. Cytotoxicity studies were carried out with the compounds using 5 tumor cell lines. Of the modified *ara*-L-uridines only **12** 5-thienyl derivative exhibited activity (L1210 (IC₅₀, 13.8 μM), Hel (IC₅₀, 0.8 μM), HeLa (IC₅₀, 20 μM)) while from cytidines compound **18** (IC₅₀ 47.3 μM) and **30** (37.6 μM) were the most potent against L1210. However, no antitumor activities were detected with the majority of derivatives. Both molecular library were subjected to antiviral test using 14 viral strains. Eleven molecule such as derivatives **2**, **10**, **16**, **34**, **37**, **44**, **47**, **56**, **62**, **65**, **68** showed slight activities (EC₅₀, 100 μM) on respiratory syncytial starin. On reovirus-1 and punta toro strains only the compound **12** while on herpes simplex-1 strain only compound **71** showed some activity (EC₅₀, 100 μM). Compound **12** was also effective on sindbis strain (EC₅₀, 45 μM). Nevertheless, majority of new molecules were ineffective on these strains. The L-ADP and L-CDP diphosphates were prepared in order to study the phosphorylation reaction kinetics with PGK enzymes. Developing a more efficient purification methods for these diphosphates significantly higher yields were achieved than reported in the literature. Results of *in vitro* and docking experiments confirmed a higher binding affinity of L-CDP to PGK than that of D-CDP.